



# **CONSERVACIÓN IN SITU DE GERMOPLASMA SILVESTRE DE PAPA EN LA RESERVA NATURAL VILLAVICENCIO**

VERÓNICA PAULINA HIDALGO

TESIS DE GRADO DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES  
RENOVABLES

Director: Dr. Carlos Federico Marfil

Co-director: Dr. Ricardo Williams Masuelli

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO

SEPTIEMBRE 2013

## AGRADECIMIENTOS

A los jurados por su dictamen y el valioso aporte a la mejora de esta tesis.

A mi director y co-director por la predisposición, dedicación y excelencia al enseñarme el “arte” de la biología molecular.

A todo el equipo de trabajo del Laboratorio de Biología Molecular, por el apoyo brindado durante la realización de esta tesis.

A las chicas de Zoo y a los docentes amigos de esta Facultad, que me guiaron en el camino a seguir, me ayudaron a tomar decisiones y depositaron su confianza en mí.

A mis amigas, por estar siempre presentes y acompañarme en este camino.

A mi novio por ser pilar, sostén y alegría durante estos años de carrera y por ser apoyo constante para lograr esta meta.

A mis padres y familia por fortalecer mis convicciones en el inicio de esta carrera.

A Dios por su luz, aliento y por haber colocado en mi camino y en el momento justo, todas estas maravillosas personas.

## RESUMEN

El Convenio sobre la Diversidad Biológica revela el papel primordial que desempeña el mantenimiento de la diversidad biológica y establece como prioritaria la conservación *in situ* de los recursos genéticos. Los parientes silvestres de los cultivos, son parte de esta biodiversidad y representan recursos imprescindibles y relevantes para abordar las necesidades de seguridad alimentaria. La papa, ancestralmente cultivada, es el principal cultivo hortícola a nivel mundial y cuenta con más de 200 especies silvestres emparentadas que proporcionan diversidad genética para el mejoramiento del cultivo. La conservación *in situ* en Áreas Protegidas (APs) permite la conservación de recursos genéticos y son el eje central en prácticamente todas las estrategias nacionales e internacionales de conservación. Este trabajo busca promover y destacar la importancia de conservación *in situ* de especies silvestres de papa en APs de Argentina. El diseño experimental contempló un trabajo de gabinete y otro de campo. La primera aproximación consistió primeramente en la identificación de APs donde crecen especies silvestres de papa, género *Solanum* sección *Petota*, en base al solapamiento de coordenadas geográficas de las APs argentinas y las introducciones del Banco de Germoplasma de Papa y Forrajeras INTA-Balcarce, seguido de la consulta de la base de datos del Sistema de Información de Biodiversidad, para posteriormente relevar el estado actual de conservación enviando una encuesta a los responsables de APs seleccionadas en base a la presencia de las especies de interés. La segunda aproximación experimental implicó el análisis de la variabilidad genética presente en poblaciones naturales de la especie silvestre de papa *Solanum kurtzianum* que crece en la Reserva Natural Villavicencio provincia de Mendoza. A partir del trabajo de gabinete, se identificaron 18 especies de la sección *Petota* distribuidas en 21 APs ubicadas en 11 provincias argentinas. Tomando

como criterio la riqueza de especies, se destacaron las APs correspondientes al Parque Nacional los Cardones, Monumento Natural Laguna de los Pozuelos y Reserva de la Biósfera de Las Yungas en la región norte del país, las cuales tendrían un alto potencial para establecer reservas genéticas para la conservación *in situ* de estos recursos. Respecto al trabajo de campo, se analizó la variabilidad genética en 22 poblaciones de *S. kurtzianum* ubicadas en sitios de fácil y difícil acceso (correspondiente al camino aledaño a la ruta y travesía pedestre respectivamente) dentro de la RN Villavicencio empleando marcadores moleculares AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*). La matriz binaria de presencia/ausencia de fragmentos quedó formada por 67 muestras y 214 fragmentos totales. La similitud genética para el coeficiente DICE varió entre 0,66 y 1. En el fenograma, algunas poblaciones se agruparon por origen geográfico, mientras que en otros casos los agrupamientos fueron heterogéneos, conteniendo muestras recolectadas en distintos sitios. El número total de fragmentos (F) por población varió entre 109 y 143. El número de F únicos varió de 0 a 4 entre las poblaciones. El número de F raros compartidos entre poblaciones varió de 1 a 13 y los frecuentes entre 105 y 132. El promedio de acuerdo al sitio de origen, para los F únicos varió entre 0,6 y 1,6 para los raros entre 2,4 y 6,6 y para los frecuentes de 109,8 a 121,4. Al comparar entre si los sitios de fácil y difícil acceso se obtuvo que el promedio de F únicos, raros y frecuentes, en el primer caso, fue de 0,93, 4,07 y 116,33 respectivamente, mientras que para el sitio de difícil acceso correspondió a 1,00; 4,29 y 121,00. El uso del marcador molecular AFLP ha permitido generar una base de datos de los fragmentos AFLP en poblaciones de *S. kurtzianum* distribuidas en la RN Villavicencio que permitirá el monitoreo a través del tiempo de la variabilidad genética, herramienta indispensable para implementar estrategias de conservación *in situ* y que podría contribuir para elaborar y evaluar acciones de manejo dentro de la reserva.

**Palabras clave:** áreas protegidas, conservación *in situ*, diversidad biológica, *Solanum kurtzianum*

## INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN .....	iii
INDICE.....	v
LISTA DE TABLAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
SIGLAS.....	x
<b>1 INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Convenios internacionales y contexto nacional de conservación .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Necesidad de conservación .....</b>	<b>7</b>
1.2.1 Parientes silvestres de cultivos (PSC) ó <i>crop wild relatives</i> (CWR). .....	7
1.2.2 Especies silvestres de papa .....	9
<b>1.3 Estrategias de conservación .....</b>	<b>11</b>
1.3.1 <i>Ex situ</i> .....	11
1.3.2 <i>In situ</i> .....	12
<b>1.4 Planteo del problema .....</b>	<b>13</b>
<b>1.5 Objetivos .....</b>	<b>14</b>
1.5.1 Objetivo general .....	14
1.5.2 Objetivos específicos .....	14
<b>2 MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Trabajo de gabinete: Áreas Naturales Protegidas en Argentina .....</b>	<b>15</b>
2.1.1 Identificación de Áreas Protegidas donde crecen naturalmente especies tuberosas de <i>Solanum</i> . .....	15
2.1.2 Elaboración de una encuesta para actualizar información relativa a Áreas Protegidas.....	16
<b>2.2 Trabajo de Campo: Caracterización genética con marcadores moleculares AFLP de poblaciones naturales de <i>Solanum kurtzianum</i> distribuidas en la Reserva Natural Villavicencio .....</b>	<b>18</b>
2.2.1 Material vegetal .....	18
2.2.2 Extracción de ADN (ácido desoxirribonucleico) .....	20
2.2.3 Control de calidad y cuantificación del ADN total: electroforesis en gel de agarosa .....	21
2.2.4 Aplicación de la Técnica AFLP ( <i>Amplified Fragment Length Polymorphism</i> ): Polimorfismo para la Longitud de Fragmentos Amplificados.....	22
2.2.5 Generación de matiz binaria y análisis de datos .....	26
2.2.5.1 Obtención de la matriz binaria .....	26
2.2.5.2 Análisis de datos de la matriz .....	27
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>30</b>
<b>3.1 Trabajo de gabinete: Áreas Naturales Protegidas en Argentina .....</b>	<b>30</b>

3.1.1 Identificación de Áreas Protegidas donde crecen naturalmente especies tuberosas de <i>Solanum</i> .....	30
3.1.2 Información obtenida de las encuestas y otras fuentes.....	32
<b>3.2 Trabajo de Campo: Caracterización genética con marcadores moleculares AFLP de poblaciones naturales de <i>Solanum kurtzianum</i> distribuidas en la Reserva Natural Villavicencio .....</b>	<b>37</b>
3.2.1 Extracción de ADN. Control de calidad y cuantificación.....	37
<b>3.2.2 Análisis de datos .....</b>	<b>38</b>
3.2.2.1 Matriz binaria .....	38
3.2.2.2 Matrices de similitud genética .....	39
3.2.2.3 Fenograma.....	39
3.2.2.4 Análisis de coordenadas principales en dos dimensiones.....	42
3.2.3 Distribución de los fragmentos analizados por población y por sitio de origen.....	44
<b>4 DISCUSIÓN .....</b>	<b>47</b>
<b>4.1. Áreas Naturales Protegidas en Argentina: problemática encontrada e implicancia de los resultados .</b>	<b>47</b>
<b>4.2. Caracterización genética de poblaciones en la Reserva Natural Villavicencio .....</b>	<b>53</b>
BIBLIOGRAFIA .....	59
<b>ANEXO I .....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXO II .....</b>	<b>76</b>
<b>ANEXO III .....</b>	<b>77</b>

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Origen y localización de poblaciones muestreadas y cantidad de muestras por población.

Tabla 2: Componentes empleados y volumen de reacción en las etapas de *digestión* y *ligación*.

Tabla 3: Componentes empleados, volumen de reacción y especificaciones del programa utilizado en la *preamplificación*.

Tabla 4: Componentes empleados, volumen de reacción y especificaciones del programa utilizados en la *amplificación*.

Tabla 5: Componentes empleados y volumen utilizados en el Analizador de fragmentos-secuenciador automático ABI PRISM 3130.

Tabla 6: Combinación de *primers* específicos y nucleótidos selectivos empleados en la etapa de *amplificación*.

Tabla 7: Ecuaciones empleadas para el cálculo de la similitud genética y sus componentes.

Tabla 8: Áreas Protegidas seleccionadas del Sistema Nacional de Áreas Protegidas. Información relativa al año de creación, presencia de Plan de Manejo o Gestión y comparación entre especies de *Solanum* sección *Petota* surgidas del solapamiento de coordenadas INTA Balcarse/AP y especies descritas en las fuentes de información del SIB.

Tabla 9: Número de fragmentos únicos, raros y frecuentes por población.

Tabla 10: Porcentaje de fragmentos únicos, raros y frecuentes por población.

Tabla 11: Promedio de fragmentos únicos, raros y frecuentes por sitio de muestreo y media total de fragmentos analizados.

Tabla 12: Porcentaje y promedio de fragmentos únicos, raros y frecuentes por sitio de fácil y de difícil acceso.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Organigrama institucional vinculado a la conservación en Áreas Protegidas nacionales y provinciales de Argentina.

Figura 2: Sitios de muestreo de poblaciones de *Solanum kurtzianum*. Imagen satelital de la Reserva Natural Villavicencio, provincia de Mendoza.

Figura 3: Distribución geográfica de especies de *Solanum* sección *Petota* en las Áreas Protegidas de Argentina, obtenido a partir del solapamiento de coordenadas de introducciones del Banco de Germoplasma de Papa y Forrajeras INTA Balcarce y datos geográficos de las Áreas Protegidas.

Figura 4: Electroforesis en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio y verificación de la calidad de ADN genómico. Muestras de ADN (columnas 1-36) comparadas con el marcador de peso molecular lambda ( $\lambda$ ).

Figura 5. Fenograma obtenido a partir del análisis de AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) empleando coeficiente DICE.

Figura 6: Análisis de coordenadas principales en dos dimensiones.

Figura 7: Número de fragmentos totales, únicos, raros y frecuentes por población.

Figura 8: Porcentaje de fragmentos únicos, raros y frecuentes por población. Cálculo en función del número total de fragmentos de cada población.

Figura 9: Porcentaje y promedio de fragmentos (F) únicos, raros y frecuentes por sitio de muestreo y media total.

Figura 10: Porcentaje y promedio de fragmentos (F) únicos, raros y frecuentes por sitio de fácil y de difícil acceso.

## SIGLAS

ADN: ácido desoxirribonucleico.

AFLP: Polimorfismo para la Longitud de Fragmentos Amplificados.

AP/APs: Área /s Protegida/s.

APN: Administración de Parques Nacionales.

CCT Mendoza: Centro Científico Tecnológico- Mendoza.

CIP: Centro Internacional de la Papa.

COFEMA: Consejo Federal de Medio Ambiente.

CONARGEN: Comisión Nacional Asesora en Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura.

DRNR: Dirección de Recursos Naturales Renovables.

ENB: Estrategia Nacional de Biodiversidad.

GTAP: Grupo de Trabajo de Áreas Protegidas.

IADIZA: Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas.

IANIGLA: Instituto Argentino de Nivología, Glaciología y Ciencias Ambientales.

IBAM: Instituto de Biología Agrícola de Mendoza.

INASE: Instituto Nacional de Semillas.

INTA: Instituto Nacional de tecnología Agropecuaria.

ONGs: Organizaciones no gubernamentales.

PM: Plan de Manejo o Gestión.

PN: Parque Nacional.

POAs: Planes operativos anuales.

PP: Parque Provincial.

PSC: Parientes silvestres de los cultivos.

RB: Reserva de Biósfera.

RN: Reserva Natural.

RNA: ácido ribonucleico.

RPUM: Reserva Provincial de Usos Múltiples.

SAGPyA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos.

SAyDS: Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sustentable.

SIB: Sistema de Información sobre Biodiversidad.

SIFAP: Sistema Federal de Áreas Protegidas.

SNAP: Sistema Nacional de Áreas Protegidas.

SNRG: Sistema Nacional de Recursos Genéticos.

# **1 INTRODUCCION**

## **1.1 Convenios internacionales y contexto nacional de conservación**

En el contexto internacional, durante la Conferencia Mundial sobre Medio Ambiente y Desarrollo realizada en Rio de Janeiro en 1992, se abordó un tema medioambiental fundamental que implicó el desarrollo de un convenio marco global sobre protección internacional de la biodiversidad conocido comúnmente como Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB) (SAyDS 2003; Escorihuela et al. 2006). Este tratado internacional es jurídicamente vinculante para los países firmantes, actualmente lo conforman más de 185 países miembros (PNUMA web 2013) y establece los siguientes objetivos generales: la conservación de la diversidad biológica, la utilización sostenible de sus componentes y la participación justa y equitativa de los beneficios derivados de su utilización (CBD 1992). En junio de 2012, los países renovaron el compromiso de cumplir con los objetivos de conservación del CBD, hecho que ocurrió durante la Conferencia de las Naciones Unidas sobre Desarrollo Sostenible en Rio de Janeiro, conocida como Rio+20 (Naciones Unidas 2012).

En Argentina, a partir de la sanción de la Ley N°24.375 que ratificó el CDB en 1994, se comienza a elaborar la Estrategia Nacional de Biodiversidad (ENB) que en su sección tercera se refiere a la conservación de la diversidad biológica en Áreas Protegidas (APs) y fija como objetivos implementar el Sistema Nacional de Áreas Protegidas (SNAP) (SAyDS Nación). El SNAP comprende reservas naturales tanto de jurisdicción nacional como provincial, y se haya regulado por la Ley Nacional 22.351 sobre protección de Parques y Reservas Nacionales y Monumentos Naturales (Ley 22.351 1980; Burkart et al. 1994). A su vez, la ley nacional 22.351 fija políticas y lineamientos a través de la elaboración de un plan de gestión institucional que se ve reflejado en los instrumentos de planificación de cada AP a través del Plan de Manejo o Gestión (PM) (ANP 2006). Además, la

mencionada ley, promueve el establecimiento de Sistemas Provinciales de Áreas Protegidas (SAyDS 2003; Ley 24.375 1994).

Los requerimientos de un Desarrollo Sustentable implican la integración de las dimensiones social, ambiental y económica, en este marco las APs juegan un papel vital en el desarrollo y el ordenamiento territorial de los países y se consideran herramientas indispensables para promover y hacer realidad la conservación de la naturaleza (Amend et al. 2002).

Las APs son áreas definidas geográficamente, designadas, reguladas y administradas con el fin de alcanzar objetivos específicos de conservación (CBD 1992; IUCN web 2013). Las APs deben poseer PM ya que son una herramienta de apoyo a la gestión dentro de las mismas, donde se establecen las políticas, los objetivos, normas, directrices y las posibles estrategias a seguir para la conservación y manejo de recursos en el sitio (Amend et al. 2002).

En Argentina existen 360 APs que abarcan una superficie de 18.936.000 ha, lo que equivale casi al 7% del territorio nacional. Del total, 34 son de jurisdicción nacional, abarcan 3.668.400 ha (1,3% del territorio nacional y 20% de la superficie protegida) y se encuentran reguladas por la Administración de Parques Nacionales (APN). Las restantes 326 APs (90%) se encuentran bajo manejo de gobiernos provinciales, municipales o entes privados (Burkart 2006; PAB 2007). Para el año 2009 el porcentaje de conservación en el territorio nacional se había incrementado hasta el 8,19%, siendo la meta final para 2020 del 15% del territorio nacional (SAyDS Nación).

En este marco y dada la importancia que tiene para el país la conservación, es que en el Gobierno de la Nación se distinguen tres grandes áreas que vinculan los organismos destinadas a realizar acciones en APs: 1) la Secretaria de Ambiente y Desarrollo

Sustentable (SAyDS) dependiente del Ministerio de Desarrollo Social (SAyDS 2003), 2) la APN con gestión descentralizada y orgánicamente dependiente del Ministerio de Turismo (SAyDS Nación), y 3) la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos (SAGPyA) dependiente del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (Figura 1).

1- La SAyDS tiene a su cargo cuatro Subsecretarías, dos son de relevancia en este estudio. a) En la Subsecretaría de Planificación y Control Ambiental están el Grupo de Trabajo de APs y el Grupo de Conservación de la Biodiversidad, con importante injerencia en lo que respecta a las fuentes de acceso a información. b) En la Subsecretaría de Coordinación de la Política Ambiental se encuentra como dependencia el Consejo Federal de Medio Ambiente (COFEMA) siendo éste, el ámbito institucional de encuentro federal y sistema en el que las provincias y el gobierno nacional articulan conjuntamente los problemas y las soluciones vinculadas al ambiente en la totalidad del territorio nacional (COFEMA *web* 2013; Ley 25.675 2002).

2- La APN, por otro lado, es el organismo que administra, planifica y ejecuta la conservación de la diversidad biológica y cultural de las APs de orden nacional (APN *web* 2013; SAyDS Nación). Éste ha gestionado la creación del Sistema de Información sobre Biodiversidad (SIB) con el fin de iniciar un proceso de recopilación, clasificación, ordenamiento y puesta a disposición de la comunidad, de la información de carácter biológico sobre las APs bajo su jurisdicción que corresponde a las AP nacionales. Desde el 2002, la base de datos de la SIB integra la información que recibe de cada Delegación Regional. Su contenido involucra diferentes fuentes bibliográficas como publicaciones científicas, trabajos de divulgación, informes internos y observaciones del personal de APN, ONGs y otras instituciones tanto gubernamentales como no gubernamentales. Pone a disposición el acceso digital rápido a la información de carácter biológico relativo a la

conservación y uso sustentable de la biodiversidad cuyo fin es proveer información confiable (SIB web 2013).

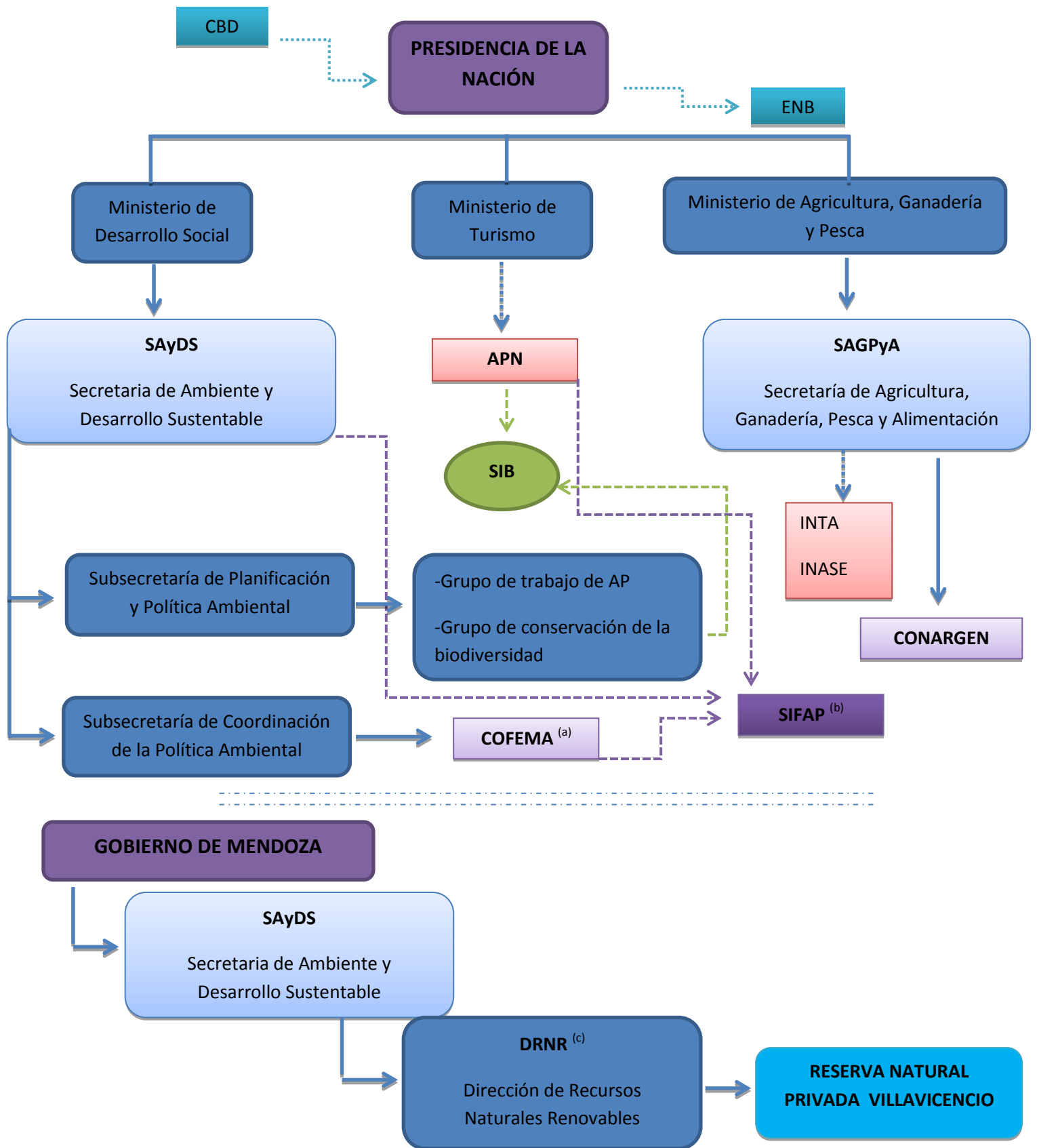
3- Por último en el ámbito de la SAGPyA, mediante la Resolución 693/2004 se crea la Comisión Nacional Asesora en Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura (CONARGEN) cuya función es asesorar a las autoridades en la problemática referida a los recursos genéticos. Además, plantea la importancia de la implementación del Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (firmado en 2002) en materia de conservación de éstos y la importancia de mantener los reservorios genéticos *in situ* de especies autóctonas. Este tratado aún no ha sido ratificado (FAO 2008).

Mediante un acuerdo firmado por la SAYDS, APN y COFEMA, se crea en el año 2003 el Sistema Federal de Áreas Protegidas (SIFAP) que involucra a todas las AP de Argentina, creadas y administradas por organismos nacionales, provinciales o municipales, o por particulares o entidades intermedias (SIFAP web 2013). En este año también, se constituye un grupo de trabajo integrado por áreas de la SAGPyA y organismos descentralizados como el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y el Instituto Nacional de Semillas (INASE) con incumbencia específica en el manejo de recursos genéticos (FAO 2008).

Mendoza cuenta con una Red de Áreas Naturales Protegidas integrada por 16 reservas, que comprenden aproximadamente el 12% de su superficie. Las APs están reguladas por la Ley 6.045 del año 1993, que tiene por objeto establecer las normas que rigen en las áreas naturales provinciales y sus ambientes silvestres, gestionados a través de la SAYDS de la provincia y administrados por la Dirección de Recursos Naturales Renovables (DRNR) (DRNR web 2013; SAYDS Mendoza). Cabe destacar que en Argentina cada provincia tiene su legislación pertinente en materia de APs bajo su jurisdicción, pero con

un común denominador que es la preservación y conservación del sitio. En Mendoza, la Reserva Natural Villavicencio forma parte de este sistema de APs, está controlada por el Estado pero no se rige por Ley provincial porque está ubicada en terrenos privados y es gestionada por una empresa privada (Gobierno de Mendoza 2006). Fue creada por Resolución Nro. 1065/2000 de la DRNR. En la actualidad se está analizando el Proyecto de Ley N° 56.463 que data del 30 de julio de 2010 para que Villavicencio sea una Reserva Natural Provincial lo cual permitiría legislarla conforme la Ley 6.045 (Osorio 2012; Marziali 2012).





#### Referencias:

**ANP:** Administración de Parques Nacionales - **CBD:** Convenio sobre la Diversidad Biológica - **COFEMA:** Consejo Federal de Medio Ambiente - **CONARGEN:** Comisión Nacional Asesora en Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura - **ENB:** Estrategia Nacional de Biodiversidad - **INASE:** Instituto Nacional de Semillas - **INTA:** Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - **SIB:** Sistema de Información de Biodiversidad - **SIFAP:** Sistema Federal de Áreas Protegidas.

<sup>a</sup> Constituido por las Regiones del Noroeste Argentino (NOA), Noreste Argentino (NEA), Centro, Patagonia Norte y Sur y el Gobierno de la Nación.

<sup>b</sup> Gestionado por seis miembros representantes de las Regiones del COFEMA, un representante de PN y un representante de la SAyDS de la Nación.

<sup>c</sup> Tiene a cargo tres Parques Provinciales y 13 Reservas Naturales, de las cuales una es privada.

Figura 1: Organigrama institucional vinculado a la conservación en Áreas Protegidas nacionales y provinciales de Argentina. Flechas azules: indican vinculación entre organismos del Estado centralizados (línea continua) y descentralizados (línea discontinua). Flechas turquesa: vinculación con el Convenio internacional y aplicación del mismo. Flechas violetas: organismos constituyentes del Sistema Federal de Áreas Protegidas (SIFAP). Flechas verdes: ingreso a la base de datos del Sistema de Información sobre Biodiversidad (SIB).

## 1.2 Necesidad de conservación

### 1.2.1 Parientes silvestres de cultivos (PSC) o *crop wild relatives* (CWR)

La biodiversidad mundial está siendo amenazada por diversos procesos inducidos por el hombre. La preocupación acerca de la considerable reducción de la diversidad biológica como consecuencia de determinadas actividades humanas fue uno de los factores que condujo a la celebración del CDB en el año 1992 (CBD *web* 2013). Las más graves amenazas actuales son el cambio en el uso de la tierra y las especies invasoras. El cambio climático ya está afectando la distribución de las especies y se prevé que sus impactos futuros sean extensos (Sala et al. 2000). En su conjunto, todos estos procesos ponen en riesgo la seguridad alimentaria global. Las últimas décadas han traído como consecuencia pérdida de cosechas, escasez de alimentos, reducción de la productividad agrícola, aumento de precios de alimentos, destacando la vulnerabilidad de los sistemas mundiales de producción de alimentos para el sostenimiento de una población humana en constante crecimiento (Miller et al. 2010).

Los objetivos de conservación del CBD revelan el papel primordial que desempeña la diversidad biológica en el mantenimiento de los ecosistemas, base fundamental para el desarrollo sostenible y el bienestar humano (Naciones Unidas 2012). Dentro de la

diversidad biológica, entendida como la variabilidad de organismos vivos de cualquier fuente, los parientes silvestres de los cultivos (PSC) representan recursos imprescindibles y relevantes para abordar las necesidades de seguridad alimentaria, proporcionando diversidad genética para el mejoramiento de los cultivos, orientado en última instancia al incremento de la plasticidad, la productividad y la sostenibilidad de los sistemas agrícolas (Jansky et al. 2012). Los PSC son aquellos taxones de plantas silvestres más o menos relacionados genéticamente con especies de particular importancia socioeconómica, incluyendo los alimentos, cultivos forrajeros, plantas medicinales, condimentos, especies ornamentales y forestales, así como los relacionados con los cultivos utilizados para fines industriales, tales como aceites y fibras (Maxted et al 2009; SCBD 2009).

La contribución de los PSC al mejoramiento genético de diferentes cultivos ha implicado la incorporación de genes que confieren resistencia a plagas y enfermedades, tolerancia al estrés abiótico, tolerancia a extremos climáticos (temperaturas, sequía) o condiciones específicas de suelo, y a su vez genes que pueden determinar una mejora en el rendimiento y en la calidad nutricional de los cultivos (Hajjar y Hodgkin 2007; Maxted y Kell 2009; IIAP 2002). El uso de genes de los PSC para mejorar el rendimiento de los cultivos está bien establecido con ejemplos importantes que datan de hace más de 60 años (Hawkes y Hjerting 1969). Para hacer frente a la demanda creciente y constante de diversidad requerida para el desarrollo de nuevas variedades, es necesario reconocer, estudiar sus utilidades potenciales y conservar los PSC (Maxted y Kell 2009). Los PSC están siendo amenazados por la pérdida y fragmentación de hábitats (Santos y Tellería 2006) y degradación de los mismos, la intensificación agrícola, y los efectos del cambio climático. Toda pérdida de diversidad genética implica que las poblaciones de diferentes PSC pueden perder la capacidad de adaptarse a las condiciones cambiantes inducidas por la inestabilidad de los ecosistemas, lo que determina un grave problema, ya que

muchas de estas especies forman la base de nuestra futura seguridad alimentaria. En este sentido, los PSC representan un recurso tangible real y potencial de beneficios económicos para la humanidad a nivel regional, nacional y global (Maxted y Kell 2009) y es relevante abordar estrategias para conservar los mismos como fuente de variabilidad ante los posibles cambios en los escenarios futuros.

### 1.2.2 Especies silvestres de papa

La papa ofrece un excelente ejemplo para comprender la importancia de la utilización del germoplasma silvestre de especies emparentadas con los cultivos para cubrir las necesidades de seguridad alimentaria mundial. Es el tercer cultivo en importancia mundial, detrás del arroz y el trigo. En 2010, la producción mundial de papa fue de 324 millones de toneladas, con un valor cercano a \$ 44 mil millones (FAO web 2013). Además, la producción de papa en las últimas décadas ha aumentado constantemente en los países en desarrollo debido a su alto rendimiento como alimento nutritivo. En Argentina es el cultivo hortícola más importante con un área implantada en la actualidad algo inferior a las 100.000 has.

La especie de papa que actualmente se cultiva es *Solanum tuberosum* L. y contiene apenas un fragmento de la diversidad genética presente en sus parientes silvestres. Las papas presentan dos modos de propagación, una vegetativa a través de tubérculos y estolones y la otra por semilla botánica. En condiciones naturales, la reproducción sexual, que conduce a la producción de semillas botánicas, sigue siendo un modo predominante de propagación y la variabilidad generada permite que continúen adaptándose a las condiciones del entorno local, hecho que sustenta la diversidad de las variedades autóctonas, incluyendo a las especies silvestres de papa (IYP 2008).

La papa es originaria de América. Su domesticación a partir de la selección de especies silvestres comestibles se produjo hace unos 10.000 años en las altiplanicies andinas de Sudamérica, en los actuales territorios de Perú y Bolivia, y fue esencial para el desarrollo de las culturas alto Andinas y aún lo sigue siendo (de Haan et al. 2010). Además, ha sido la base de la alimentación mundial desde hace muchos años (Bonavia 1993, Jansky et al. 1990 en del Rio et al. 1997-b; Morales Garzón 2007). Su expansión a España data de 1.570 y el cultivo estaba generalizado en toda Europa a fines de 1.700. En 1846 la seguridad alimentaria de miles de personas se vio amenazada al verse afectados los cultivos en Irlanda por el tizón tardío (*Phytophthora infestans*) que desbastó las producciones de papa y como consecuencia causó la muerte de más de un millón de personas por hambruna (CIP 2008). Las especies silvestres de papa ofrecen una gran variabilidad genética y se han empleado en el mejoramiento, por lo que son una fuente valiosa de caracteres de interés para las especies cultivadas (Jansky et al. 1990 en del Rio et al. 1997-a).

En el continente Americano hay descritas unas 200 especies de papas silvestres agrupadas en la sección *Petota*, género *Solanum* (Hawkes 1990). Las papas silvestres están distribuidas a lo largo de América, desde el sur de Estados Unidos hasta el centro-sur de Argentina y Chile. Están presente en México, América Central, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia, extendiéndose también en el este Brasil Paraguay, Uruguay y Argentina (Morante 2008). Su centro de biodiversidad se encuentra en México Central, oeste de Perú y noroeste Argentino (Hawkes 1990 en Masuelli et al. 2009) situado entre los 16° y 20° de latitud Norte y los 5° y 25° de latitud Sur respectivamente (Hawkes 1990; Maxted y Kell 2009). La extendida distribución geográfica de las papas se explica por la gran diversidad ecológica y el alto valor adaptativo a condiciones ambientales tan contrastantes como las impuestas por desiertos, zonas selváticas, valles andinos o regiones costeras

(Hawkes y Hjerting 1969; Hijmans y Spooner 2001). En Argentina hay 27 especies descritas de la sección *Petota* (incluida la especie cultivada *S. tuberosum*) y se encuentran también en diferentes ambientes, adaptadas tanto a condiciones subtropicales como a templadas (Hawkes 1990; IICA 2010).

### **1.3 Estrategias de conservación**

Hay dos técnicas primarias usadas para la conservación de recursos genéticos: *ex situ* e *in situ*. Estas estrategias se han establecido como áreas prioritarias en el Segundo Plan de Acción Mundial para los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (FAO 2011).

#### **1.3.1 *Ex situ***

La conservación *ex situ* se refiere a la conservación de los componentes de la diversidad biológica a nivel de especies, poblaciones y genes fuera de sus ambientes naturales en bancos de germoplasma o colecciones a campo (IICA 2010).

Los bancos de germoplasma resguardan la diversidad genética tanto de plantas silvestres como cultivadas (IICA 2010). Uno de los principales motivos de su existencia, es debido a que presentan la ventaja de concentrar el material genético y la información asociada a él, facilitando el acceso y el desarrollo de la investigación científica vinculado al mejoramiento genético (CIP web 2013). Además, son reconocidos como una de las herramientas más importantes en la preservación, estudio y utilización de las características valiosas encontradas en los PSC (del Rio 1997-b).

En Lima, Perú, se encuentra el Centro Internacional de la Papa (CIP) donde se mantiene en su banco de germoplasma la colección más grande de papa en el mundo, incluyendo más de 7.000 introducciones de variedades cultivadas autóctonas y especies silvestres

(CIP web 2013). No obstante, nuestro país también ha desarrollado estructuras nacionales organizadas de conservación *ex situ*. En el año 1970 se crea el Banco de Germoplasma de Papa en la EEA Balcarce y en 1988 en INTA se desarrolla la estructura para el establecimiento de un Sistema Nacional de Recursos Genéticos (SNRG). A partir del año 1994 se consolida la Red de Bancos de Germoplasma del INTA (Contreras 2008; INTA Servicios).

Cabe destacar que el CBD recomienda que las estrategias de conservación *ex situ* se debieran desarrollar principalmente a fin de complementar las medidas de conservación *in situ*.

### 1.3.2 *In situ*

El CBD propone de modo prioritario, en su artículo 8, la conservación de la biodiversidad en condiciones *in situ* (CBD 1992). Ésta implica que las especies permanecen en sus hábitats naturales, expuestos a los procesos de selección natural tanto en ecosistemas naturales como agroecosistemas, pudiendo realizarse en APs o fuera de ellas. Además, el Plan de Acción Mundial plantea como área prioritaria la promoción de la conservación *in situ* de los PSC y demás especies silvestres para la producción de alimentos (IICA 2010). La característica principal de la conservación en condiciones *in situ*, es que la variabilidad genética del germoplasma evoluciona con el ambiente, seleccionando las frecuencias alélicas que mejor se adaptan a las condiciones ambientales en las que crecen (IICA 2010).

Desde el inicio de la domesticación la agricultura familiar ha utilizado un gran número de especies diferentes en sus cultivos y además ha empleado diversas variedades de una misma especie, esto ha permitido conservar un alto número de individuos y conservar los alelos raros presentes en ellos (IICA 2010). El Tratado internacional sobre los Recursos

Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura resalta la importancia de la conservación *in situ* de los PSC, apoyando los esfuerzos de las comunidades indígenas y locales para lograr tal fin, pero también considera relevante su conservación en APs (FAO 2009; IIAP 2002). En este sentido, las APs son el eje central en prácticamente todas las estrategias nacionales e internacionales de conservación *in situ* (IUCN web 2013).

#### **1.4 Planteo del problema**

La mayoría de las APs son establecidas para conservar hábitats específicos o elementos de fauna y pocos son establecidos específicamente para conservar flora y PSC (Maxted y Kell 2009). Los PM asociados a cada AP en particular, generalmente no suelen tener suficiente amplitud para abordar temáticas que impliquen conservar la diversidad genética de las especies silvestres, a pesar de que este objetivo de conservación es mencionado explícitamente en sus objetivos (FAO, 1996). El planteo de la conservación de los PSC dentro de APs existentes ofrece un servicio adicional a los ecosistemas, determinando un valor agregado al sitio y facilitando la implementación de una reserva genética en un sitio que está siendo gestionado (Maxted y Kell 2009). Por lo que la propuesta de conservación *in situ* en reservas genéticas sería la técnica de conservación más apropiada, para asegurar que la máxima diversidad genética de las especies de interés esté capturada en el sistema de reserva (INTA Proyectos).

En este contexto, realizar acciones de conservación de especies silvestres de papa en APs existentes en Argentina, permitiría fortalecer no solo la importancia de la conservación de germoplasma silvestre en condiciones *in situ* por su variabilidad genética, sino además resaltar los beneficios que trae implícita su conservación para la población actual y para las futuras generaciones (IIAP 2002). El conocimiento de las poblaciones de papa presentes en una reserva y la caracterización genética de las mismas es uno de los pasos para implementar una reserva genética.



Un amplio enfoque utilizando marcadores moleculares es recomendable para analizar la diversidad genética de especies de interés, para apoyar la conservación y el manejo de los recursos genéticos vegetales. La conservación efectiva de los PSC supone realizar diversas actividades como monitorear la especie y su hábitat para garantizar que las intervenciones y las acciones de manejo realmente cumplan sus objetivos.

En el presente trabajo se caracterizaron genéticamente 22 poblaciones de *Solanum kurtzianum* presentes en la Reserva Natural Villavicencio. *Solanum kurtzianum* es una especie silvestre diploide ( $2n=2x=24$ ) auto incompatible que crece naturalmente en las provincias de Catamarca, La Rioja, Mendoza y San Juan. Es probablemente la especie silvestre de papa argentina mejor adaptada a ambientes secos (Hawkes y Hjerting 1969). A su vez, esta especie es importante para el mejoramiento del cultivo de papa debido a su tolerancia al enrollamiento de la hoja (*Fusarium sambucinum*), a nematodos, al tizón tardío, a la marchites por *Verticillium*, y a los virus A, F, X, Y (Hawkes y Hjerting 1969).

## **1.5 Objetivos**

### **1.5.1 Objetivo general:**

- Promover la conservación *in situ* de especies silvestres de papa en Áreas Protegidas de Argentina.

### **1.5.2 Objetivos específicos:**

- Identificar Áreas Protegidas de Argentina donde crecen especies silvestres de papa, género *Solanum*, sección *Petota*.
- Releva dentro de las Áreas Protegidas seleccionadas, el estado actual de conservación de dichas especies.

- Caracterizar genéticamente poblaciones de la especie silvestre de papa *Solanum kurtzianum* distribuidas en la Reserva Natural Villavicencio, Mendoza.

## **2 MATERIALES Y MÉTODOS**

El diseño experimental contempló dos aproximaciones: Trabajo de gabinete: Áreas Protegidas en Argentina, y Trabajo de campo: Caracterización genética con marcadores moleculares AFLP de poblaciones naturales de *Solanum kurtzianum* distribuidas en la Reserva Natural Villavicencio.

### **2.1 Trabajo de gabinete: Áreas Naturales Protegidas en Argentina**

#### **2.1.1 Identificación de Áreas Protegidas donde crecen naturalmente especies tuberosas de *Solanum***

Utilizando el programa *ArcView* GIS 3.2, (Environmental Systems Research Institute, Inc. 1999) se solapó en un mapa de Argentina las coordenadas geográficas de las APs del país con los datos de distribución de especies de la sección *Petota* género *Solanum* correspondientes a las introducciones del Banco de Germoplasma de Papa y Forrajas INTA-Balcarce (Clausen y Castaño 1998). Utilizando este procedimiento se seleccionaron las APs donde crecerían algunas de las más de 200 especies descritas en la sección *Petota*. Posteriormente, utilizando el buscador de la página web del SIB (<http://www.sib.gov.ar/>) se constató, para cada AP seleccionada a partir del solapamiento, la presencia de especies de la sección *Petota*. Ingresando con el nombre del AP se revisó la base de datos Plantae- Solanacea de las especies endémicas y autóctonas citadas en las fuentes bibliográficas del SIB.

### 2.1.2 Elaboración de una encuesta para actualizar información relativa a Áreas Protegidas

En base a información presentada en el Informe Nacional sobre las APs de Argentina (APN 2007), se elaboró un cuestionario y una guía (Anexo I) cuyos objetivos generales fueron relevar la situación actual en la que se encuentran las APs del país en cuanto a la existencia de programas de conservación y manejo de flora, conservación de recursos fitogenéticos y programas de investigación, constatar el grado de aplicación de dichos programas e identificar especies vegetales estudiadas como recursos biológicos y/o especies silvestres emparentadas con cultivos (PNUMA 2003). Específicamente se buscó verificar la existencia de las especies silvestres de papa (género *Solanum*, sección *Petota*) en las APs seleccionadas a partir del solapamiento de datos del INTA/AP, como también la existencia de nuevos antecedentes en materia de investigación y recolección de material por parte de investigadores en estos sitios.

El cuestionario constó de 63 preguntas distribuidas en ocho bloques:

1. Datos del/los encuestado/s con el fin de conocer quién/es son los que poseen conocimiento acabado del manejo real que se desarrolla dentro del AP.
2. Datos del AP cuyo objeto era verificar la información obtenida a través de datos publicados en el SIB (<http://www.sib.gov.ar/>) y SIFAP (<http://www2.medioambiente.gov.ar/sifap/default.asp>) para relevar la existencia de modificaciones en los mismos.
3. Preguntas dirigidas a relevar la existencia de antecedentes de investigación, planes de manejos y/o temáticas estudiadas, evaluación y uso de recursos vegetales, como así también la presencia de algunas especies particulares dentro del AP.
4. Relevamiento sobre problemática y amenazas a la que se enfrenta el AP.

5. Preguntas dirigidas a relevar la presencia o no de pobladores y la relación que tienen las comunidades presentes y aledañas con el AP.

6. Sobre educación, difusión y divulgación del conocimiento, dirigida a relevar las actividades que se llevan a cabo para participar y/o fortalecer el aspecto referido a educación ambiental.

7. Protección y control del AP y recursos humanos, cuyo objeto fue relevar la existencia de personal idóneo destinado a la protección del AP y la presencia de instrumentos básicos para su cuidado y valoración.

8. Construcción de un esquema general que vincule a nivel institucional el AP, referido a jurisdicción, tipo de administración, administrador y dominio de la tierra.

El cuestionario fue enviado a los representantes del SIFAP de las regiones NOA, NEA y CENTRO del país que figuran en el mapa de Ecorregiones del COFEMA (SAyDS Nación), a las direcciones de correo electrónico de cada AP que figuran en la página *web* de la APN ([www.parquesnacionales.gov.ar](http://www.parquesnacionales.gov.ar)) y al Grupo de Trabajo de APs de la SAyDS del Gobierno de la Nación (<http://www.ambiente.gov.ar/>). En el caso de Mendoza, se envió el cuestionario a la Reserva Natural Villavicencio y a la DRNR (<http://www.ambiente.mendoza.gov.ar/>).

Los cuestionarios se realizaron sólo en las APs obtenidas a partir de la superposición de datos INTA/AP, presentes en las distintas provincias.

## 2.2 Trabajo de campo: Caracterización genética con marcadores moleculares AFLP de poblaciones naturales de *Solanum kurtzianum* distribuidas en la Reserva Natural Villavicencio

### 2.2.1 Material vegetal

Se muestrearon poblaciones naturales de *S. kurtzianum* distribuidas en diferentes altitudes dentro de la Reserva Natural Villavicencio, ubicada a 30 km al Noroeste de la Ciudad de Mendoza, en el Departamento de Las Heras (Dalmasso et al. 1999) (Figura 2). Los sitios de recolección fueron georreferenciados con un equipo de posicionamiento satelital (Tabla 1). A su vez, se recolectaron muestras en dos tipos de sitios: 1) Sitios de fácil acceso (Caracoles I, Caracoles II y Caracoles III), donde se muestrearon poblaciones aledañas a la Ruta Provincial 52 a los cuales se accede con vehículos, y 2) Sitios de difícil acceso (Quebrada del Hornillo) donde se muestrearon poblaciones encontradas a lo largo de una travesía pedestre de alrededor de una hora a través de la mencionada quebrada.

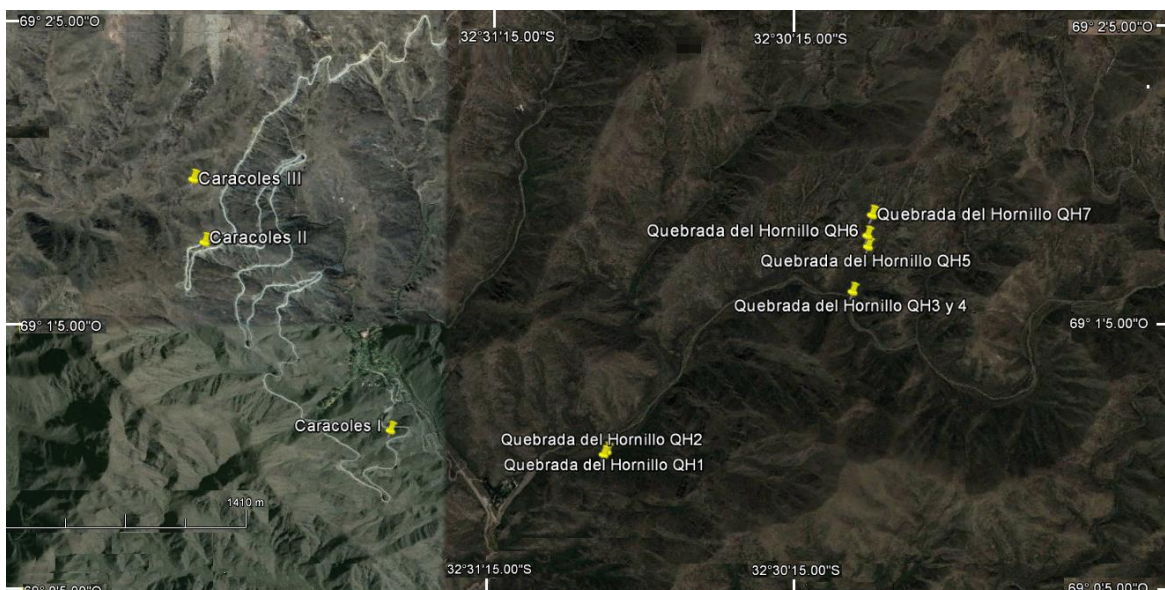


Figura 2: Sitios de muestreo de poblaciones de *Solanum kurtzianum*. Imagen satelital de la Reserva Natural Villavicencio, provincia de Mendoza.

Se recolectaron hojas en bolsas de nylon las cuales fueron rotuladas y preservadas a 4°C en una conservadora portátil hasta regresar al Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo-Mendoza. En cada población relevada, se tomaron entre tres y cuatro muestras; cada muestra consistió en un conjunto de hojas de cuatro plantas diferentes. De esta forma se muestrearon entre 12 y 16 plantas por población.

Se analizaron 67 muestras correspondientes a 22 poblaciones ubicadas a diferentes alturas y relevadas en cuatro zonas geográficas diferentes. La extracción de ADN se llevó a cabo para las 67 muestras por duplicado, totalizando 134 extracciones.

Una vez en el Laboratorio, las muestras se congelaron con nitrógeno líquido y se molieron con un mortero. Posteriormente, fueron distribuidas en tres tubos *ependorf* de 1,5 ml (tres réplicas para cada muestra) alrededor de 15 mg del polvo vegetal obtenido y luego se conservaron en un freezer de -80°C hasta el día de su procesamiento (extracción de ADN).

Tabla 1: Origen y localización de poblaciones muestreadas y cantidad de muestras por población.

Origen	Población	Localización		Altitud (msnm)	Cantidad de muestras
Quebrada del Hornillo	1167 QH1	S 32.51440	O 69.00945	1667	A-B-C
	1713 QH2	S 32.51457	O 69.00924	1713	A-B-C
	1910 QH3	S 32.50193	O 69.01954	1910	A-B-C
	1910 QH4	S 32.50193	O 69.01954	1910	A-B-C
	1910 QH5	S 32.50144	O 69.02222	1910	A-B-C
	2000 QH6	S 32.50157	O 69.02285	2000	A-B-C
	2000 QH7	S 32.50155	O 69.02400	2000	A-B-C-D
Caracoles I	1800 A	S 32.52568	O 69.01069	1800	A1-A2-A3
	1800 B	S 32.52568	O 69.01069	1800	B1-B2
	1800 C	S 32.52568	O 69.01069	1800	C1-C2-C3

	1800 D	S 32.52568	O 69.01069	1800	D1-D2-D3
	1800 F	S 32.52573	O 69.01090	1800	F1-F2-F3
Caracoles II	2000 A	S 32.53423	O 69.02194	2000	A1-A2-A3
	2000 B	S 32.53423	O 69.02194	2000	B1-B2-B3
	2000 C	S 32.53423	O 69.02194	2000	C1-C2-C3
	2000 D	S 32.53423	O 69.02194	2000	D1-D2-D3
	2000 E	S 32.53271	O 69.02057	2000	E1-E2-E3
Caracoles III	2166 A	S 32.53472	O 69.02555	2166	A1-A2-A3-A4
	2166 B	S 32.53472	O 69.02555	2166	B1-B2
	2166 C	S 32.53472	O 69.02555	2166	C1-C2-C3-C4
	2166 D	S 32.53472	O 69.02555	2166	D1-D2-D3
	2166 E	S 32.53472	O 69.02555	2166	E1-E2-E3

### 2.2.2 Extracción de ADN (ácido desoxirribonucleico)

El ADN total fue aislado de las hojas molidas empleando el protocolo descrito por Dellaporta et al. (1983), con una sensible modificación que consistió en la incorporación de un paso intermedio de tratamiento con una enzima específica denominada RNAasa con el fin de eliminar el ácido ribonucleico (RNA) de las muestras.

El protocolo consistió en: a) Tomar los tubos *ependorf* de 1,5 ml del freezer con la muestra molida y colocarlos en N<sub>2</sub> líquido para evitar que se descongelaran. b) Rápidamente se incorporó a cada tubo 400 µl de Buffer de extracción (BE): Tris-Cl pH 8,0-0,1M, NaCl 0,5M, EDTA 50mM, SDS 1,2%, β-Mercaptoetanol 1 µl/ml. c) Posteriormente los tubos fueron incubados a 65°C en un baño termostatzado por 10 minutos previo homogeneización en *vortex*. d) Luego se añadieron 150 µl de acetato de potasio 5M, se mezcló suavemente por inversión y después de ser mantenidos en el freezer durante 30 minutos los tubos fueron centrifugados a 10.000 rpm durante 20 minutos a 4°C. Se extrajo el sobrenadante (alrededor de 600 µl) con una micropipeta y se colocó en un tubo nuevo, evitando tocar el *pellet* formado por los restos de tejido. e) Se adicionó a los tubos nuevos ½ volumen de isopropanol (300 µl), mezclando suavemente e inmediatamente se

centrifugó durante 5 minutos a 14.000 rpm a 4°C. f) Cuidadosamente se extrajeron los tubos de la centrífuga, luego de eliminar el sobrenadante invirtiéndolos, se dejó secar el *pellet* al aire durante 30 minutos. g) El *pellet* fue resuspendido con 100 µl de solución Tris-EDTA (TE) conteniendo la enzima RNAasa a una concentración de 50 µg/ml y dejando actuar la enzima a temperatura ambiente durante 30 minutos. h) Luego se adicionaron 2 volúmenes (200 µl) de etanol- acetato de sodio (para 100 ml se emplea 96 ml etanol + 4 ml acetato de sodio 3M), se incubaron los tubos en el freezer durante 30 minutos y posteriormente se centrifugaron a 14.000 rpm por 10 minutos a 4°C. i) Se eliminó el sobrenadante por inversión, se enjuagó el *pellet* con 500 µl de etanol 70% y luego se lo dejó secar. j) Finalmente se resuspendió cada *pellet* en 100 µl de agua doblemente destilada y esterilizada en autoclave, conservándose las muestras a -20°C.

### 2.2.3 Control de calidad y cuantificación del ADN total: electroforesis en gel de agarosa

Con el doble propósito de cuantificar y controlar la calidad de ADN obtenido, se realizó una electroforesis en gel de agarosa. Esta es una técnica basada en la separación de las moléculas en una matriz porosa y a través de un campo eléctrico, de acuerdo al tamaño y a la carga eléctrica que poseen (Ferreira y Grattapaglia 1998).

Se preparó un gel de agarosa al 0,8% empleando buffer Tris-Borato EDTA (TBE) 0,5X. Las muestras fueron combinadas con buffer de carga y sembradas en el gel. Las condiciones de electroforesis fueron a 90 voltios durante 40 minutos y posteriormente se tiñó el gel con bromuro de etidio durante 10 minutos, se observó en un transiluminador de luz UV y se foto-documentó utilizando el programa *Molecular Analyst*.

El contenido de ADN de las muestras en estudio, expresado en nanogramos (ng), se cuantificó empleando el programa *Molecular Analyst*<sup>TM</sup>/PC versión 1.5 (Bio-Rad Laboratories 2000). Para construir una curva de cuantificación se utilizó 8 µl del marcador



de peso molecular: *Markers Lambda* DNA ( $\lambda$ ) cortado con las enzimas de restricción *EcoRI* y *HindIII* – (Promega Madison USA). La comparación entre la intensidad de fluorescencia emitida por los fragmentos del marcador  $\lambda$  de masa conocida y la intensidad de brillo o fluorescencia de los fragmentos de las muestras de interés documentados en el gel permitió cuantificar el contenido de ADN de las muestras. Se realizó la dilución de las muestras a una concentración final de 3 ng/ $\mu$ l con el fin de obtener la misma concentración de ADN para todas las muestras.

#### 2.2.4 Aplicación de la técnica AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*): Polimorfismo para la Longitud de Fragmentos Amplificados

Para analizar la variabilidad genética presente en las poblaciones muestreadas se utilizaron marcadores moleculares AFLP. Esta técnica contiene la especificidad, resolución y poder de muestreo de la digestión con enzimas de restricción, con la velocidad y practicidad de detección de polimorfismo vía PCR (*Polymerase Chain Reaction*) denominada reacción en cadena de la polimerasa (Ferreira y Grattapaglia 1998).

La técnica AFLP consiste en una serie de cuatro etapas.

1. Durante la *digestión*, el ADN total es cortado por enzimas de restricción *EcoRI* de corte poco frecuente y *MseI* de corte frecuente (Tabla 2).
2. En la etapa de *ligación*, se incorporan adaptadores específicos con extremos cohesivos complementarios a los extremos de los fragmentos generados durante la digestión (Tabla 2). En ésta etapa los adaptadores empleados consisten en una secuencia núcleo y una secuencia enzima-específica. Siendo la estructura del adaptador *EcoRI*:

5-CTCGTAGACTGCGTACC

CATCTGACGCATGGTTAA-5

Y la estructura del adaptador *MseI*:

5-GACGATGAGTCCTGAG

TACTCAGGACTCAT-5

Tabla 2: Componentes empleados y volumen de reacción en las etapas de *digestión* y *ligación*.

Reacción de Digestión (*)		Reacción de Ligación (**)	
Componente	Volumen (μl)	Componente	Volumen (μl)
Diluciones de ADN (3 ng/μl).	10,00	Producto de Digestión.	6,25
Buffer2. 10x New England Biolabs.	1,25	Buffer 5x Invitrogen.	2,50
Eco RI (20U/ μl) New England Biolabs.	0,10	Adaptador EcoRI (5 pmol).	1,00
MseI (10U/ μl) New England Biolabs.	0,10	Adaptador MseI (50 pmol).	1,00
BSA 100x (10 ng/ml).	0,125	T <sub>4</sub> ligasa (1U/ μl) Invitrogen.	0,75
H <sub>2</sub> O	0,925	H <sub>2</sub> O	1,00
Vol. final	12,50	Vol. Final	12,50
(*)Reacción incubada en estufa durante 2 hs. Visualización de fragmentos de ADN digerido en gel de agarosa al 0,8%.		(**)Reacción incubada en Termociclador a temperatura constante de 20°C durante 3 hs.	

3. La etapa tres, consiste en dos pasos sucesivos de *amplificaciones* por PCR, lo que implica la síntesis enzimática *in vitro* de millones de copias de un segmento específico de ADN en presencia de la enzima ADN polimerasa. Comprende las reacciones de *pre-amplificación* y *amplificación*. Durante la *pre-amplificación* se produce una selección de fragmentos utilizando *primers* (iniciadores) de secuencia complementaria a los adaptadores con un nucleótido adicional en su extremo 3'. Posteriormente la subpoblación de fragmentos es *amplificada* selectivamente utilizando *primers* específicos diseñados para reconocer las secuencias en los adaptadores más tres nucleótidos arbitrarios adicionales en el extremo 3'. Este procedimiento permite reducir el número de fragmentos a ser resueltos mediante electroforesis. Los *primers* correspondientes a *EcoRI*

utilizados en la amplificación selectiva están marcados con fluorescencia en su extremo 5'. El empleo de un Termociclador PTC-100™ (MJ. Research. Inc) permitió llevar a cabo estas reacciones (Tabla 3 y 4).

En la *amplificación* los *primers* selectivos constan de tres partes, una secuencia núcleo (CORE), una secuencia enzima-específica (ENZ) y una extensión selectiva (EXT) (Vos 1995). Debajo se ilustran los *primers* *EcoRI* y *MseI* con tres nucleótidos selectivos (los nucleótidos selectivos se muestran como NNN):

	CORE	ENZ	EXT
<i>EcoRI</i>	5-GACTGCGTACC	AATTC	NNN-3
<i>MseI</i>	5-GATGAGTCCTGAG	TAA	NNN-3

Tabla 3: Componentes empleados, volumen de reacción y especificaciones del programa utilizado en la *preamplificación*.

Reacción de PCR: <b>Preamplificación (*)</b>		<b>Programa</b>		
Componente	Volumen (μl)	Etapas	Tiempo	Temperatura (°C)
<i>Producto de Ligación.</i>	1,00	1	30 seg.	94°C
<i>Buffer 10x PCR</i> Invitrogen.	2,50	2	30 seg.	56°C
<i>Cl<sub>2</sub>Mg</i> (50 mM) Invitrogen.	0,75	3	1 min.	72°C
<i>dNTP's</i> (2 mM) Invitrogen	5,00	4	1 a 3 x19	
<i>Primer Eco +1</i> (40 ng/μl).	0,80	5	∞	4°C
<i>Primer Mse +1</i> (40 ng/μl).	0,80			
<i>Taq DNA polimerasa</i> (5U/μl) Invitrogen.	0,20			
<i>H<sub>2</sub>O</i>	13,95			
<b>Vol. final</b>	<b>25,00</b>			
(*) Visualización de fragmentos de ADN <i>preamplificados</i> en gel de agarosa al 1,2%.				

Tabla 4: Componentes empleados, volumen de reacción y especificaciones del programa utilizados en la *amplificación*.

Reacción de PCR: <b>Amplificación (**)</b>		<b>Programa</b>		
Componente	Volumen (μl)	Etapas	Tiempo	Temperatura (°C)
<i>Producto de Preamplificación</i> (1:3) (*)	1,00	1	30 seg.	94

Buffer 10x PCR Invitrogen.	1,00
Cl <sub>2</sub> Mg (50 mM) Invitrogen.	0,30
dNTP's (2 mM) Invitrogen.	0,50
Primer EcoRI (4uM).	0,50
Primer MseI (50 ng/ μl).	0,50
Taq DNA polimerasa (5u/μl) Invitrogen.	0,10
H <sub>2</sub> O	6,10
Vol. final	10,00
(*) Se realizó una dilución 1:3 del producto de preamplificación.	
(**) Visualización de fragmentos de ADN Amplificados en gel de poliacrilamida.	

2	30 seg.	65
3	1 min.	72
4	1 a 3 x13 (*)	
5	30 seg.	94
6	30 seg.	56
7	1 min.	72
8	5 a 7 x22	
9	∞	4
(*) Bajando la T° annealing 0.7°C por ciclo, desde 65 hasta 56°C.		

4. En la última etapa, la subpoblación de fragmentos amplificados se resolvió en un analizador de fragmentos- secuenciador automático ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems Genetic Analyzer 3130), lo cual permitió la detección de los fragmentos marcados con fluorescencia (Tabla 5).

Tabla 5: Componentes empleados y volúmenes utilizados en el Analizador de fragmentos- secuenciador automático ABI PRISM 3130.

Analizador de fragmentos-secuenciador	
Componentes	Volumen para una muestra ( $\mu$ l)
<i>Producto de PCR: fragmentos Amplificados.</i>	1,00
ROX Applied Biosystems.	0,35
Hi-Di Formamida.	8,65
<b>Vol. Final</b>	<b>10,00</b>

Se probaron seis combinaciones diferentes de *primers* selectivos en la *amplificación* para lo cual se tomaron tres muestras de cada población al azar y se desarrolló el protocolo de AFLP antes descrito. En este subgrupo se seleccionaron dos combinaciones en base al número y calidad de fragmentos amplificados para realizar el posterior análisis. Las combinaciones 1 y 3 resultaron adecuadas (Tabla 6).

Tabla 6: Combinación de *primers* específicos y nucleótidos selectivos empleados en la etapa de *amplificación*.

	<i>Primers EcoRI</i>	<i>Primers MseI</i>
<b>Combinación 1</b>	<b>FAM-ACG</b>	<b>CAA</b>
<b>Combinación 2</b>	FAM-AAG	CTG
<b>Combinación 3</b>	<b>FAM-ACA</b>	<b>CAA</b>
<b>Combinación 4</b>	FAM-ACA	CAT
<b>Combinación 5</b>	FAM-ACA	CTC
<b>Combinación 6</b>	FAM-ACA	CTG

## 2.2.5 Generación de matriz binaria y análisis de datos

### 2.2.5.1 Obtención de la matriz binaria

El analizador de fragmentos- secuenciador automático ABI PRISM 3130, genera un electrofenograma que se traduce en una matriz de código binario. Los productos de la amplificación selectiva, se siembran en el analizador de fragmentos-secuenciador, equipo que permite una separación de los fragmentos amplificados de cada muestra a través de una electroforesis capilar. Los fragmentos son resueltos en base a su tamaño utilizando el polímero POP7 Applied Biosystems. Posteriormente un dispositivo láser detecta las fluctuaciones en las emisiones de luz que surgen de las emisiones de fluorescencia de los *primers EcoRI* presentes en el extremo 5' de cada uno de los fragmentos amplificados. Esto genera un electrofenograma donde los picos se interpretan como los fragmentos AFLP amplificados en cada una de las muestras analizadas.

Los fragmentos fueron automáticamente computados utilizando el programa Gene Mapper® (ABI) y convertidos en un código binario de presencia/ausencia de fragmentos, designados como 1 y 0 respectivamente. Los picos analizados fueron seleccionados utilizando criterios tales como altura, interferencia con picos vecinos y consistencia de la amplificación. Para cada uno de los picos analizados se estableció el rango de variación

en la altura y el tamaño de los mismos (Anexo II). Cada muestra fue procesada por duplicado desde la extracción de ADN. Luego se compararon los patrones de amplificación de cada duplicado y sólo los picos que aparecían en ambas réplicas fueron considerados en el análisis.

#### 2.2.5.2 Análisis de datos de la matriz

La matriz básica de datos generada quedó comprendida por el total de las muestras y sus respectivas réplicas. En el posterior análisis se emplearon sólo muestras simples (sin su réplica), teniendo en cuenta que la comparación de réplicas permitió desestimar los fragmentos que no fueron amplificados en ambas.

Para cada par de *primers* se computó el número de fragmentos amplificados y su distribución en cada una de las poblaciones. Además, se calculó el porcentaje de fragmentos no contabilizados en el análisis por no estar presentes en ambas réplicas. De este modo se obtuvo una matriz donde se calculó: (i) la similitud genética entre pares de muestras que derivó en una matriz de similitud (Crisci et al. 1983), (ii) posteriormente se realizó un análisis de agrupamiento y se generó un fenograma (dendrograma) aplicando el algoritmo UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Averaging) descrito por Sneath y Sokal (1973) en Crisci et al. 1983, y (iii) se efectuó un análisis multivariado fenético en dos dimensiones a través del método de ordenamiento de Coordenadas Principales (Crisci et al. 1983). Los análisis se efectuaron con el programa NTSYS 2.01 (Rohlf 1992).

(i) La matriz de similitud es una tabla de doble entrada que expone la similitud que existe entre las muestras comparadas de a pares. Para el cálculo se utilizaron 2 coeficientes: Dice y Jaccard, cuyas ecuaciones se detallan en la Tabla 7. De acuerdo a su ecuación, estos coeficientes no consideran las ausencias compartidas (el componente “d” en las

ecuaciones). En los análisis de AFLP, el hecho que dos muestras compartan la ausencia de un fragmento específico no se debe considerar una similitud, debido a que la ausencia de este fragmento podría estar determinada tanto por la ausencia del sitio de corte para las enzimas de restricción utilizadas, como a la presencia de polimorfismo en la secuencia complementaria a los nucleótidos selectivos de los *primers* utilizados en las reacciones de *preamplificación y amplificación*.

Tabla 7: Ecuaciones empleadas para el cálculo de la similitud genética y sus componentes.

Ecuaciones		Componentes (*)		
DICE	JACCARD		+	-
Dice=2a/2a+b+c	Jaccard= a/a+b+c	+	a	b
		-	c	d
(*) Donde: a. es el N° de caracteres en los cuales el mismo fragmento es compartido por ambas muestras. b. es el N° de caracteres en los cuales un fragmento está presente en la primer muestra pero ausente en la segunda c. es el N° de caracteres en los cuales un fragmento está ausente en la primera muestra y presente en la segunda. d. es el número de caracteres en los cuales un fragmento está ausente en ambas muestras.				

(ii) Las relaciones entre la totalidad de las muestras se interpretan a partir del análisis de agrupamiento que se observa en el fenograma (diagrama de árbol). Para la construcción de los agrupamientos Crisci et al. (1983) expone que se utiliza el ligamiento promedio, comparando el promedio de similitud de las muestras, con cada nueva inclusión y aplicando un algoritmo denominado UPGMA o media aritmética no ponderada. El resultado que se obtiene es una matriz del promedio de los valores de similitud a partir de la cual se construye el fenograma.

(iii) El análisis de coordenadas principales, consiste en visualizar la posición de los grupos formados por las muestras, en base a ejes o componentes principales, determinados por un conjunto de caracteres (fragmentos) que contienen una parte de la variabilidad total de los caracteres. Cada componente contiene la información de todos los caracteres

(fragmentos) pero en diferentes proporciones (Crisci et al. 1983). La matriz de datos se estandarizó para lo cual el programa calculó la distancia entre las muestras y la matriz resultante fue transformada para el cálculo de autovalores. Se obtuvo el cálculo del árbol de mínimas distancias (MST) y se superpuso sobre la proyección de unidades taxonómicas operativas (OTU) en las coordenadas principales. La relación entre las muestras se ve reflejada en la posición en la que se distribuyen en el espacio. Cuanto más cerca se disponen entre si implica que están relacionadas más estrechamente.

Posteriormente, se analizó la distribución de cada uno de los fragmentos en cada una de las 22 poblaciones consideradas. De acuerdo a la frecuencia de los fragmentos en las poblaciones se estableció un criterio arbitrario clasificando a los fragmentos como únicos, raros y frecuentes. A los fragmentos que cumplían con una frecuencia de  $1/22$  se los asignó como únicos (fragmentos presentes en una única población), los fragmentos con una frecuencia de entre  $2/22$  y  $4/22$  se los asignó como raros (indica fragmentos que son compartidos por entre 2 y 4 poblaciones), y los fragmentos frecuentes fueron aquellos que cumplían con una frecuencia de entre  $5/22$  y  $22/22$  (implica que un fragmento particular fue compartido por cinco o más poblaciones).

Por otro lado, de acuerdo al origen donde fueron muestreadas, se agrupó a las poblaciones en cuatro sitios geográficos, tres de fácil acceso correspondiente a los Caracoles I, II y III (poblaciones 1800 A-F; 2000 A-E y 2166 A-E, respectivamente) y uno de difícil acceso correspondiente a Quebrada del Hornillo (poblaciones QH 1 a QH7).



### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Trabajo de gabinete: Áreas Naturales Protegidas en Argentina

##### 3.1.1 Identificación de Áreas Protegidas donde crecen naturalmente especies tuberosas de *Solanum*

De acuerdo al solapamiento de coordenadas geográficas correspondientes a las de introducciones del Banco de Germoplasma y la de las APs, se identificaron 18 especies de *Solanum* de la sección *Petota* distribuidas en 21 AP ubicadas (considerando que la RB de Las Yungas involucra al PN Baritú, PN Calilegua PP Laguna Pintascayo) y en 11 provincias argentinas (Figura 3).

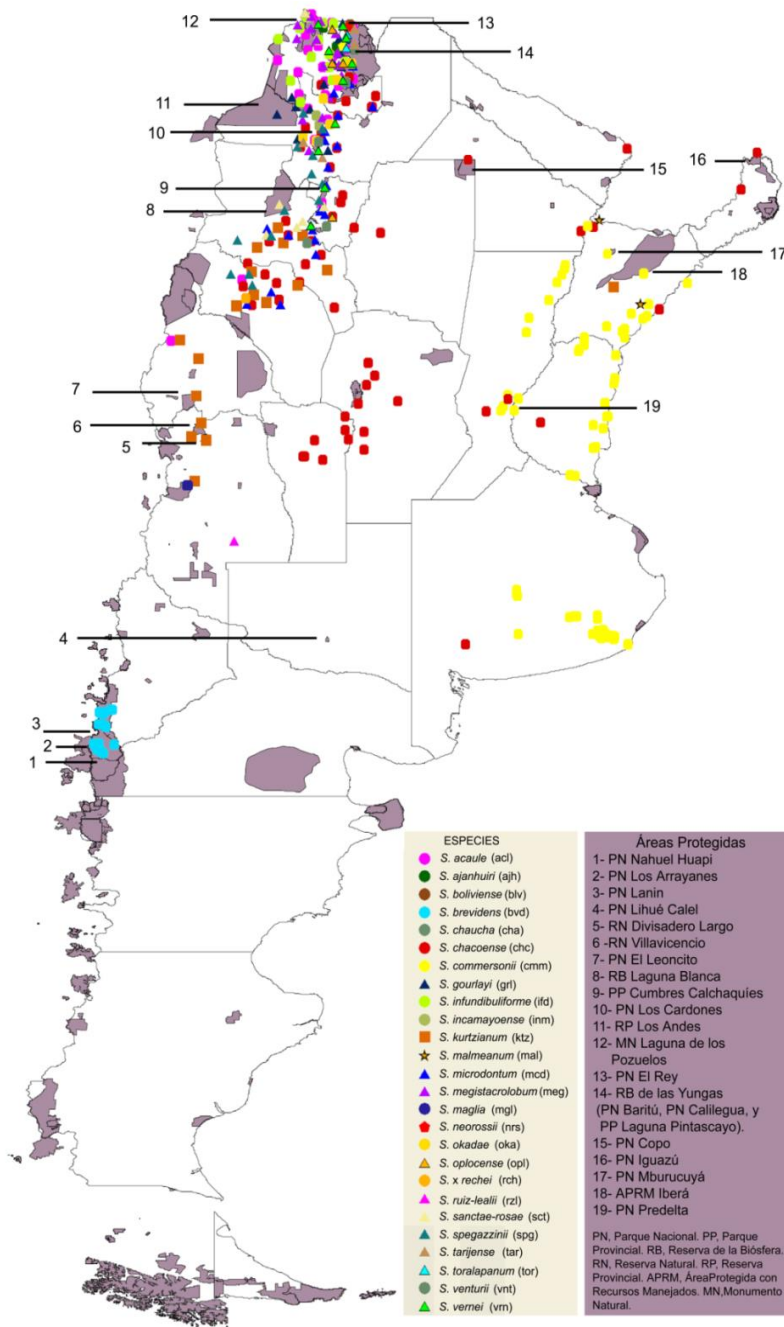


Figura 3: Distribución geográfica de especies de *Solanum* sección *Petota* en las Áreas Protegidas de Argentina, obtenido a partir del solapamiento de coordenadas de introducciones del Banco de Germoplasma de Papa y Forrajeras INTA Balcarce y datos geográficos de las Áreas Protegidas.

Al comparar las especies que surgieron del mapa de solapamiento INTA/AP con datos del SIB (Tabla 8) puede observarse que tan sólo en cuatro AP correspondientes al PN El Leoncito, PN Mburucuyá, PN Iguazú y PN Predelta coinciden las especies en ambos casos. Para el resto de las AP, sin considerar aquellas en las cuales faltan datos, se ha determinado un mayor número de especies de la sección *Petota* que surgen a partir del solapamiento INTA/AP, que los registrados en la base de datos del SIB. Cabe destacar que el SIB solo contiene información referente a APs de jurisdicción Nacional, por lo que la información referente a las especies presentes en APs provinciales no se pudo constatar.

### 3.1.2 Información obtenida de las encuestas y otras fuentes

Las encuestas se enviaron a las AP previa selección de las mismas. Se exceptuaron el PN Nahuel Huapi, PN Los Arrayanes y PN Lanín, en las que crece la especie *Solanum brevidens*, la cual pertenece a la sección *Petota* aunque no forma tubérculos. En este sentido, de las 21 AP obtenidas, se seleccionaron 18 correspondientes al centro y norte del País para relevar la situación actual de las mismas. Además, se incorporaron las APs Reserva Provincial de Usos Múltiples Copo y Parque Provincial por estar vinculada y ubicadas en la zona aledaña al PN Copo y la Reserva Nacional Nogalar de los Toldos presente en la Selva de las Yungas. Se ha supuesto que en estos sitios, por su ubicación geográfica también podrían crecer estas especies (Tabla 8).

Por parte de los Parques Nacionales en estudio, no se obtuvo respuesta alguna, por lo que se estableció una comunicación con la Lic. Aída Gotlib, coordinadora del Grupo de Trabajo de AP (GTAP) de la SAYDS, quien manifestó que la información que se pretendía relevar vinculaba varias áreas de trabajo por lo que era complejo responder las encuestas. No obstante, el Ingeniero Agrónomo Luis Polotto, integrante del GTAP y vinculante con el SIFAP, facilitó la comunicación con la Directora Nacional de AP de la

APN, Lic. Ana Balabucic, quien a través de la Técnica Universitaria en Información Ambiental Mariana Méndez, (integrante del Programa Planificación de la Dirección Nacional de Conservación de Áreas Protegidas), aportó información sobre la existencia de Planes de Gestión o Manejo de los diferentes PN del País, como también su pertenencia a sitios RAMSAR y Reservas de Biósfera (RB) (Tabla 8).





















Con respecto a las AP de jurisdicción provincial la única encuesta respondida fue la de la Reserva Natural Villavicencio, Mendoza (Anexo I), además respondieron el correo electrónico dos representantes provinciales, de La Pampa y de Santiago del Estero.

Con respecto a RN Villavicencio, el aporte de información por parte de guardaparques fue valioso. La reserva está emplazada en la Precordillera del macizo andino (x: 6.379.000 a 6.413.500; y: 2.485.000 a 2.518.000) y a una altura que va entre los 700 y los 3000 m.s.n.m. y tiene una superficie de 72.000 ha. Se ubica en la Provincia Fitogeográfica del Monte, pero además presenta ecosistemas del Cardonal y la Puna y la protección de los mismos derivó en uno de sus objetivos de creación. Además posee una cuenca de captación de recursos hídricos y su valor implica también belleza escénica y paisajística, la protección de comunidades y especies de flora y fauna y el valor histórico, que determina la buena percepción, por parte de la administración pública, de la importancia de la reserva. Cuenta con plan de manejo y elaboración de Planes operativos anuales (POAs). En el sitio trabajan 10 guardaparques quienes poseen el equipamiento básico para las operaciones de campo y buena parte de la infraestructura necesaria para el manejo. En materia de investigación, se vincula con instituciones académicas, como las Universidades, tanto extranjeras como del país, la provincia y el municipio, además de otras instituciones como INTA, CCT Mendoza (IBAM, IADIZA, IANIGLA) y ONGs (Banco de Bosques y Fundación Vida Silvestre). Posee registro de los estudios científicos llevados a cabo en el área, uno de ellos involucra a especies vegetales de interés

aromático y medicinal como uso potencial y destacan que es necesaria la realización de relevamientos de otros recursos fitogenéticos. Además existen programas vinculados a conservación y manejo de recursos biológicos en Solanaceas y poseen conocimiento que la única especie de la sección *Petota* que crece en esta reserva es *S. kurtzianum*. En el sitio no se permite ningún tipo de actividad de uso de recurso flora y fauna, como tampoco hay comunidades humanas viviendo en ella, pero presenta problemáticas vinculadas a incendios forestales (naturales e intencionales), caza, extracción de especies vegetales, invasiones biológicas y el manejo de los residuos antrópicos también es dificultoso dado que reciben visitantes. En cuanto a los recursos financieros no manifestaron inconvenientes.

Con respecto a los representantes provinciales, el Dr. Darío Marianini, de la Subsecretaría de Ecología de la Gobernación de La Pampa, respondió el pedido de colaboración indicando que la encuesta referida a la RN Lihue Calel se dirigiera a la APN, ya que actualmente es un Parque Nacional. Por otro lado, el Ing. Héctor Abatedaga, Subdirector de Áreas, Dirección de Bosques y Fauna de Santiago del Estero, a través de Federico Rivas, técnico de la Subdirección de Áreas Protegidas respondió que la Reserva Provincial de Usos Múltiples Copo (RPUM), actualmente posee la superficie subdividida en dos áreas de diferente categoría de manejo: la de Parque Provincial (PP) y la RPUM. Desde esta Subdirección, se explicó, que se gestiona activamente la primera, no siendo el caso en relación a la Reserva. Destacó que en el PP hay actualmente investigaciones en curso para elaborar inventarios de biodiversidad, principalmente de flora y fauna silvestre, a cargo de profesionales independientes. En la RPUM vienen trabajando instituciones como el INTA y la Universidad Nacional de Santiago del Estero desde hace un tiempo, pero sin poseer información en relación a qué temática están abordando ni quién específicamente las está ejecutando.

Tabla 8: Áreas Protegidas seleccionadas del Sistema Nacional de Áreas Protegidas. Información relativa al año de creación, presencia de Plan de Manejo o Gestión y comparación entre especies de *Solanum* sección *Petota* surgidas del solapamiento de coordenadas INTA Balcarce/AP y especies descritas en las fuentes de información del SIB.

Provincia	Año de Creación	Área Protegida	Plan de Manejo	Especies de <i>Solanum</i> Sección <i>Petota</i> (INTA/AP)	Especies de <i>Solanum</i> Sección <i>Petota</i> (SIB)
La Pampa	1977	Parque Nacional Lihue Calel ( Reserva Natural creada en 1964)		<i>S. chacoense</i>	Otras Especies de género <i>Solanum</i>
Mendoza	1983	Reserva Natural Divisadero Largo(*)		<i>S. kurtzianum</i>	Sin datos
	2000	Reserva Natural Villavicencio (*)		<i>S. kurtzianum</i>	Sin datos
San Juan	2002	Parque Nacional El Leoncito		<i>S. kurtzianum</i>	<i>S. kurtzianum</i>
Catamarca	1979	Reserva de Biósfera Laguna Blanca (****)		<i>S. sanctae-rosae</i> <i>S. spegazzinii</i>	Sin datos
Tucumán		Parque Provincial Cumbres Calchaquies(*)		<i>S. microdontum</i> <i>S. vernei</i>	Sin datos
Salta	1996	Parque Nacional Los Cardones		<i>S. acaule</i> <i>S. gourlayi</i> <i>S. megistacrolobum</i> <i>S. spegazzinii</i> <i>S. vernei</i>	<i>S. gourlayi</i> <i>S. megistacrolobum</i> <i>S. spegazzinii</i>
	1980	Reserva Provincial Los Andes (*)		<i>S. acaule</i> <i>S. gourlayi</i> <i>S. infundibuliforme</i>	Sin datos
	1948	Parque Nacional El Rey		<i>S. microdontum</i>	Otras Especies de género <i>Solanum</i>
Jujuy	1980	Monumento Natural Laguna de los Pozuelos (***)		<i>S. acaule</i> <i>S. infundibuliforme</i> <i>S. megistacrolobum</i> <i>S. oplocense</i> <i>S. sanctae-rosae</i> <i>S. vernei</i>	<i>S. megistacrolobum</i>
Jujuy/Salta	1974	Parque Nacional Baritú (**)		<i>S. acaule</i> , <i>S. boliviense</i> <i>S. chacoense</i> ,	<i>S. tuberosum</i>
	1979	Parque Nacional Calilegua (**)		<i>S. gourlayi</i> , <i>S. microdontum</i> <i>S. megistacrolobum</i> <i>S. okadae</i> <i>S. tarijense</i>	<i>S. gourlayi</i> <i>S. microdontum</i> subsp. <i>gigantophyllum</i> <i>S. venturii</i>
	2000	Parque Provincial Laguna Pintascayo (*) (**)		<i>S. toralapanum</i> <i>S. venturii</i> <i>S. vernei</i>	Sin datos
	2006	Reserva Nacional Nogalar de los Toldos		No evaluada	<i>S. boliviense</i> <i>S. microdontum</i> subsp. <i>microdontum</i>
Santiago del Estero	2000	Parque Nacional Copo		<i>S. chacoense</i>	Otras Especies de género <i>Solanum</i>
		Reserva Provincial de Usos Múltiples Copo/ Parque Provincial Copo (*)		No evaluada	Sin datos
Misiones	1934	Parque Nacional Iguazú		<i>S. chacoense</i>	<i>S. chacoense</i> subsp. <i>chacoense</i>
Corrientes	2001	Parque Nacional Mburucuyá		<i>S. commersonii</i>	<i>S. commersonii</i>
	1982	Área Protegida con Recursos Manejados Iberá(*)		<i>S. commersonii</i>	Sin datos
Entre Ríos	1991	Parque Nacional Predelta		<i>S. chacoense</i> <i>S. commersonii</i>	<i>S. chacoense</i> subsp. <i>chacoense</i> <i>S. commersonii</i> subsp. <i>commersonii</i>

Referencias:

● Áreas con Plan de Gestión o Manejo: PN Calilegua año 2009: vigente. PN el Leoncito año 2009: vigente. PN Mburucuyá año 2002: no vigente. PN Iguazú año 1988: no vigente. PN Copo: versión preliminar. RN Villavicencio: vigente.

■ Plan de Gestión en proceso de elaboración (implica que se está llevando a cabo actualmente su elaboración)

■ Plan de Gestión en proyecto de elaboración (implica que se prevee a futuro realizar su elaboración)

● Áreas sin Plan de Gestión o Manejo

▲ Sin datos

(\*) Áreas de jurisdicción Provincial

(\*\*) Áreas que forman parte de la Reserva de Biósfera las Yungas declarada en 2002.

(\*\*\*) Área declarada Sitio RAMSAR y Reserva de Biósfera en 1990.

(\*\*\*\*) Área declarada Reserva de Biósfera en 1982.

### 3.2 Trabajo de campo: Caracterización genética con marcadores moleculares AFLP de poblaciones naturales de *Solanum kurtzianum* distribuidas en la Reserva Natural Villavicencio

#### 3.2.1 Extracción de ADN. Control de calidad y cuantificación.

A través de electroforesis en geles de agarosa se verificó que la calidad e integridad del ADN extraído fuera adecuada para implementar los posteriores análisis con marcadores AFLP. La tinción con bromuro de etidio mostró una banda nítida ubicada alrededor de 21kb (21.000 pb), y no se observó un desplazamiento de la señal hacia menores longitudes de fragmentos, lo que indica que se obtuvieron fragmentos de alto peso molecular minimizándose o evitándose la degradación de los mismos (Figura 4).



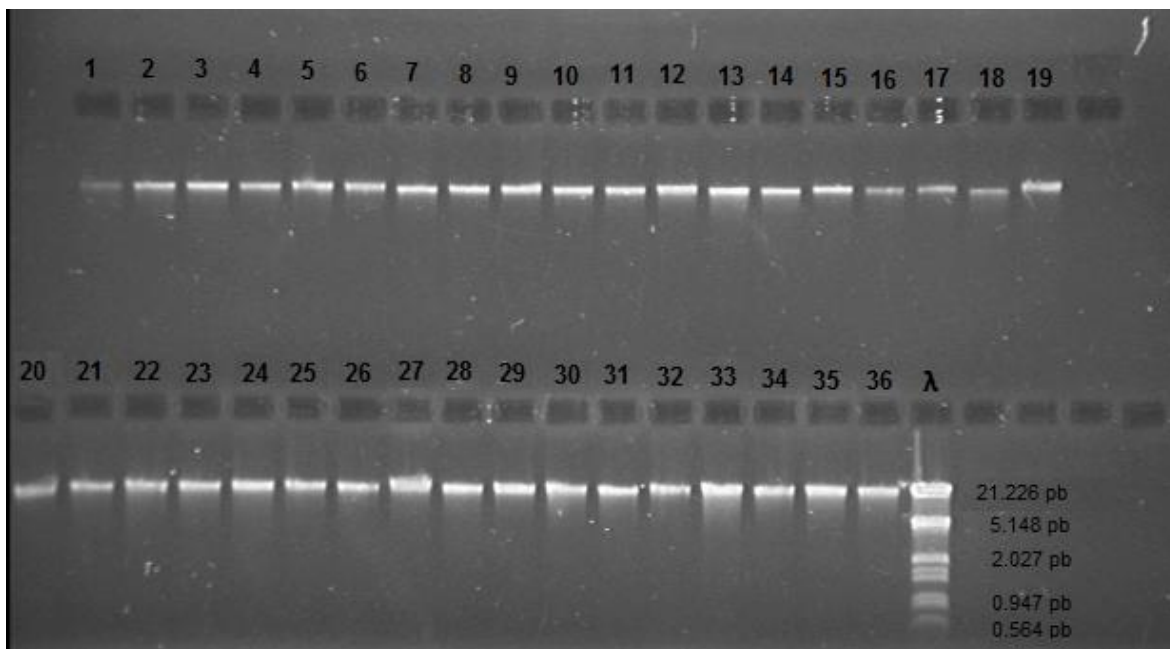


Figura 4: Electroforesis en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio y verificación de la calidad de ADN genómico. Muestras de ADN (columnas 1-36) comparadas con el marcador de peso molecular lambda ( $\lambda$ ).

### 3.2.2 Análisis de datos

#### 3.2.2.1 Matriz binaria

A partir de los fragmentos amplificados, resueltos con el secuenciador automático y computados con el programa GenMapper se obtuvo una matriz binaria simple de datos, donde se representa la presencia/ausencia de cada fragmento en cada una de las 134 muestras (se analizaron 67 muestras con sus respectivas réplicas). Posteriormente, para el análisis de la similitud genética se consideraron sólo los fragmentos presentes en ambas réplicas. De este modo, la matriz binaria definitiva quedó formada por 67 muestras y 214 fragmentos totales, de los cuales 88 correspondieron a la combinación de *primers* ACG/CAA y 126 a la combinación ACA/CAA. El número total de fragmentos no contabilizados en el análisis (por no estar presentes en ambas réplicas) fue de 13

(6,07%). Se eliminaron del análisis siete fragmentos para la combinación ACG/CAA (7,37%) y seis para la combinación ACA/CAA (4,54%).

#### 3.2.2.2 Matrices de similitud genética

Se construyeron dos matrices de similitud utilizando los coeficientes DICE y Jaccard. Con el coeficiente DICE, el menor valor de similitud genética fue de 0,66 entre las muestras 2000D2 y 1667QH1C, lo cual implica que son similares en un 66% y que difieren en un 34%. El mayor valor de similitud fue de 1 (100% de similitud) para los pares de muestras 2166C2 y 2166 C1, y 2166D3 y 2166D2 correspondiendo a muestras de la misma población y entre 2166C3 y 2166B1 de distintas poblaciones, seguido por una similitud de 0,99 (99%) para las muestras 2166A4 y 2166A3, 2166E3 y 2166E2, 2166D1 y 2166D2, y 1800B2 y 1800C3.

Para el coeficiente Jaccard, el agrupamiento fue idéntico al anterior, el menor valor de similitud fue de 0,49 entre las muestras 2000D2 y 1167QH1C, lo cual implica que son similares en un 49% y que se diferencian en un 51%. El mayor valor de similitud fue de 0,99 (99% de similitud) para 2166C1 y 2166C2, y 2166D2 y 2166D3 correspondiendo a muestras de la misma población y entre 2166B1 y 2166C3 de distintas poblaciones. Cabe destacar que las muestras que registraron tanto menor como mayor valor de similitud son las mismas para ambos coeficientes. Dado los resultados se realiza el análisis en función del coeficiente DICE.

#### 3.2.2.3 Fenograma

En el fenograma, la jerarquía lineal establecida determina la similitud entre los grupos. La longitud de las ramas es proporcional a la disimilitud genética entre las muestras analizadas. En la Figura 5 se observa que a un coeficiente de 0,74 de similitud de DICE se diferencian dos grandes grupos, por un lado las poblaciones recolectadas por debajo

de los 1750 m.s.n.m y por el otro, un grupo más heterogéneo que agrupó a las muestras recolectadas entre los 1800 y 2166 m.s.n.m. (grupo I y II respectivamente).

Si bien algunas poblaciones se agruparon por origen geográfico formando un grupo homogéneo como el caso de 2000QH7 A-D (grupo IV), en otras no fue así, como el caso de un grupo heterogéneo que contiene poblaciones ubicadas a 1800, 1910 y 2000 m.s.n.m. (grupo III). Esto se distingue observando los grupos establecidos a un coeficiente de DICE de 0,81. Además, algunas muestras recolectadas de la misma población se distribuyen en diferentes grupos como es el caso de la población 2000D.

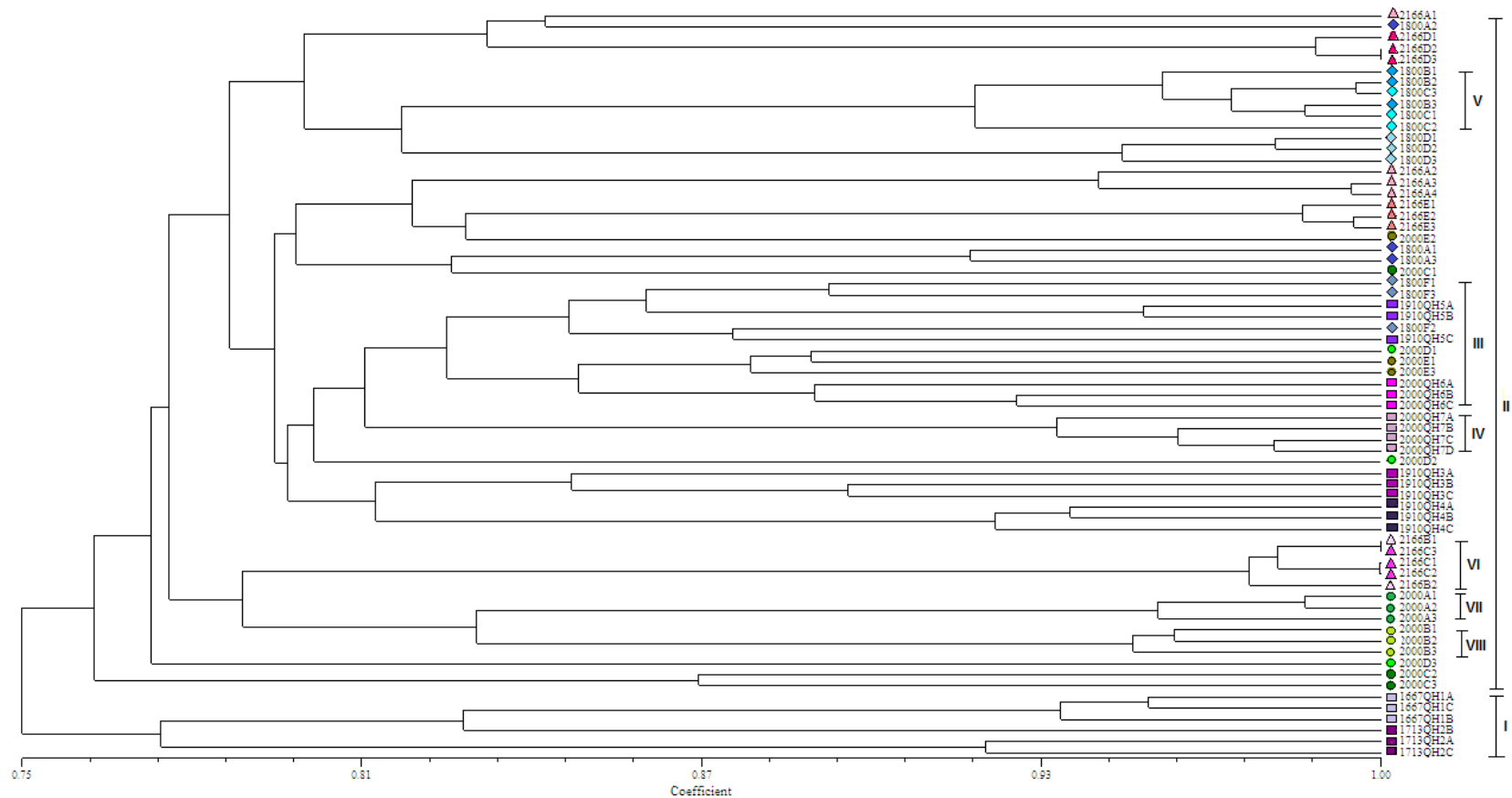


Figura 5. Fenograma obtenido a partir del análisis de AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) empleando coeficiente DICE. Rombos, cuadrados, círculos y triángulos corresponden a los cuatro sitios geográficos: 1800 A-F, QH 1-7, 2000 A-E y 2166 A-E, respectivamente. Diferentes colores de cada una de estas figuras geométricas indican muestras recolectadas en distintas poblaciones dentro del mismo sitio geográfico. Muestras identificadas con la misma figura geométrica y mismo color indican que pertenecen a la misma población. En números romanos se distinguen los grupos. La longitud de las ramas es proporcional a la disimilitud genética entre las muestras analizadas.

#### 3.2.2.4 Análisis de coordenadas principales en dos dimensiones.

En este análisis se observan cinco grupos aislados que se corresponden a grupos definidos dentro del fenograma, por lo que hay consistencia entre los grupos que corresponden: al grupo IV (2000QH7A, 2000QH7B, 2000QH7C y 2000QH7D); al grupo V (1800C1, 1800C2, 1800B1, 1800B2 y 1800B3); al grupo VI (2166B1, 2166B2, 2166C1, 2166C2 y 2166C3); al grupo VII (2000A1, 2000A2 y 2000A3); y por último al grupo VIII (2000B1, 2000B2 y 2000B3), respectivamente. Además se observa un gran grupo heterogéneo coincidente con las muestras ubicadas en el grupo III del fenograma.

Para las poblaciones 1667QH1A, 1667QH1B, 1667QH1C, 1713QHA, 1713QH B y 1713QH C, el análisis de coordenadas principales no se corresponde con el agrupamiento definido dentro del fenograma, por lo que no se observa consistencia en este grupo ubicado por debajo de los 1750 m.s.n.m. lo cual implicaría que se debería analizar un mayor número de muestras colectadas a estas alturas (Figura 6).

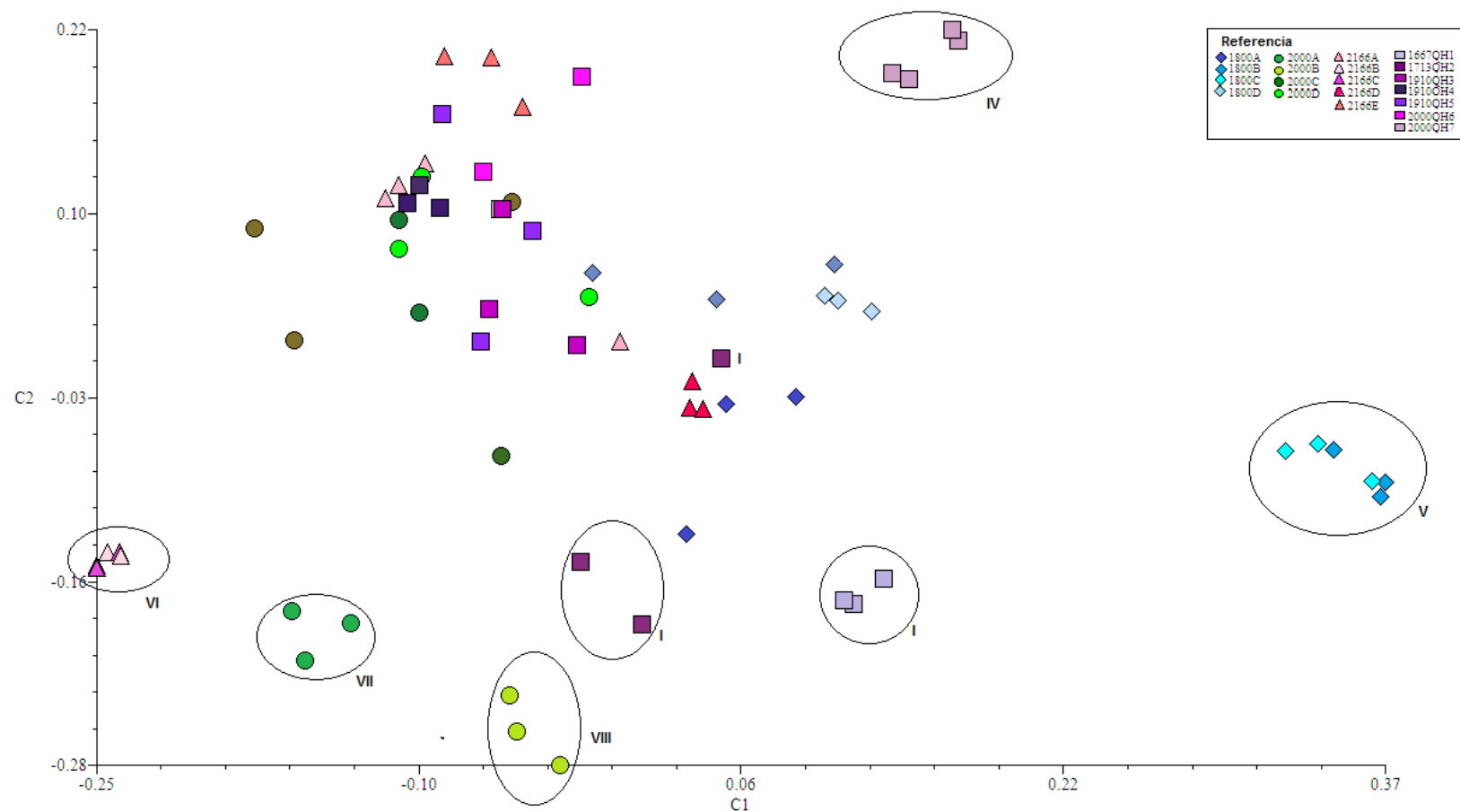


Figura 6: Análisis de coordenadas principales en dos dimensiones. Rombos, cuadrados, círculos y triángulos corresponden a los sitios 1800A-F, QH1-7, 2000A-E y 2166A-E respectivamente. Diferentes colores de cada una de estas figuras geométricas indican muestras recolectadas en distintas poblaciones dentro del mismo sitio geográfico. Muestras identificadas con la misma figura geométrica y mismo color indican que pertenecen a la misma población. Los números romanos indican los agrupamientos formados. La relación de cercanía entre las muestras o agrupamiento, se ve reflejada en la posición en la que se distribuyen en el espacio.

### 3.2.3 Distribución de los fragmentos analizados por población y por sitio de origen

Para el total de las poblaciones el número de fragmentos únicos, raros y frecuentes resultó 21 (9,8%), 34 (15,9%) y 159 (74,3%), respectivamente. El número total de fragmentos analizados por población varió entre 109 y 143 (Tabla 9). El número de fragmentos únicos varió de 0 a 4 entre poblaciones, para los fragmentos raros fue de 1 a 13 y para los frecuentes entre 105 y 132. La población 1800D presentó el total de sus fragmentos frecuentes y las restantes presentaron fragmentos únicos y raros en número variable. Las poblaciones 2000B y 2000C tuvieron 4 fragmentos únicos cada una (3%) siendo el mayor número observado. Con respecto a fragmentos raros, estas poblaciones sumadas a la población 1713QH2 tuvieron valores de 11(9%), 10 (7%) y 13 (9%) respectivamente (Tabla 10).

Tabla 9: Número de fragmentos únicos, raros y frecuentes por población.

Población	2166	2166	2166	2166	2166	1800	1800	1800	1800	1800	2000	2000	2000	2000	2000	1167	1713	1910	1910	1910	2000	2000
Fragmentos	A	B	C	D	E	A	B	C	D	F	A	B	C	D	E	QH1	QH2	QH3	QH4	QH5	QH6	QH7
■ N°F únicos	1	1	1	0	0	1	2	0	0	0	0	4	4	0	0	2	2	2	0	0	0	1
■ N°F raros	3	3	3	2	1	3	6	2	0	5	5	11	10	4	3	7	13	4	1	2	1	2
■ N°F frecuentes	121	105	107	108	108	129	113	112	110	125	113	114	120	128	132	117	128	128	117	124	124	109
■ N°F total	125	109	111	110	109	133	121	114	110	130	118	129	134	132	135	126	143	134	118	126	125	112

Tabla 10: Porcentaje de fragmentos únicos, raros y frecuentes por población.

Población	2166	2166	2166	2166	2166	1800	1800	1800	1800	1800	2000	2000	2000	2000	2000	1167	1713	1910	1910	1910	2000	2000
Fragmentos	A	B	C	D	E	A	B	C	D	F	A	B	C	D	E	QH1	QH2	QH3	QH4	QH5	QH6	QH7
■ %F únicos	1	1	1	0	0	1	2	0	0	0	0	3	3	0	0	2	1	1	0	0	0	1
■ %F raros	2	3	3	2	1	2	5	2	0	4	4	9	7	3	2	6	9	3	1	2	1	2
■ % F frecuentes	97	96	96	98	99	97	93	98	100	96	96	88	90	97	98	93	90	96	99	98	99	97

De este análisis se destaca el predominio de fragmentos frecuentes y una distribución de los mismos de modo homogéneo en todas las poblaciones (Figura 7 y 8). Se observa que el número de fragmentos únicos y raros en cada población es similar, pero cabe destacar que cada población tiene su particularidad ya que difieren en los fragmentos únicos y raros que presentan, estos se detallan en el Anexo III.

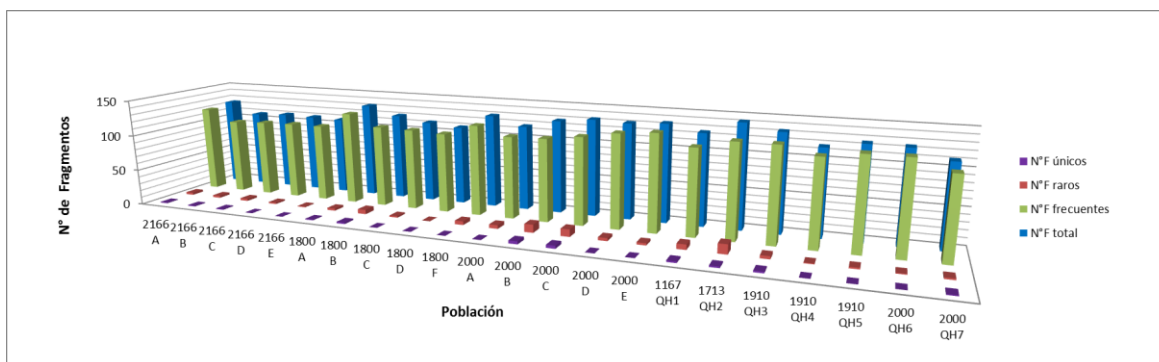


Figura 7: Número de fragmentos totales, únicos, raros y frecuentes por población. Fragmentos únicos: presentes solo en una población (frecuencia de 1/22). Fragmentos raros: presentes en entre dos y cuatro poblaciones (frecuencia entre 2/22 y 4/22). Fragmentos frecuentes: presentes en cinco o más poblaciones (frecuencia entre 5/22 y 22/22).

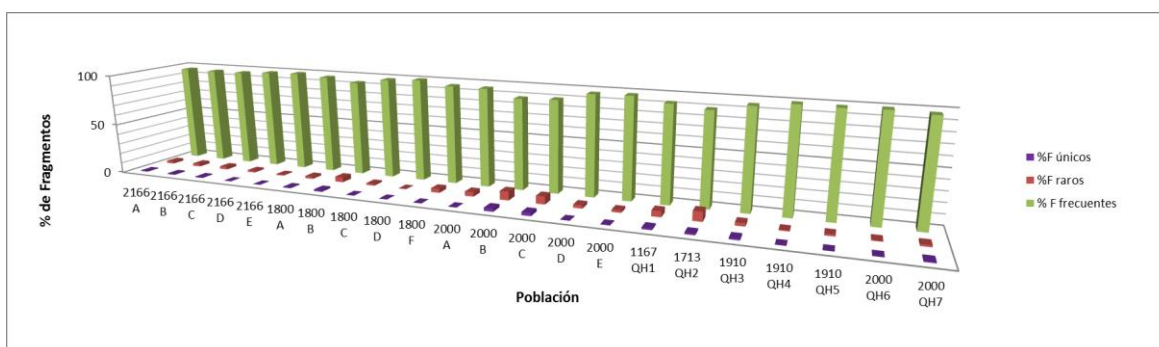


Figura 8: Porcentaje de fragmentos únicos, raros y frecuentes por población. Cálculo en función del número total de fragmentos de cada población.

De acuerdo al sitio de origen, el promedio para los F únicos varió entre 0,6 y 1,6 para los raros entre 2,4 y 6,6 y para los frecuentes de 109,8 a 121,4. Los mayores valores promedio de fragmentos únicos comprendieron a 2000 A-E y fue de 1,6 (1,23%) y a QH1-7 con un valor de 1,0 (0,79%). Para los fragmentos raros estos sitios también presentaron el mayor valor siendo 6,6 (5,09%) y 4,29 (3,39%) respectivamente y con respecto a los fragmentos frecuentes los valores fueron similares en ambos casos, 121,4 (93,67%) y 121,0 (95,81%) respectivamente. El promedio de los fragmentos únicos, raros y



frecuentes del total de poblaciones analizadas fue de 0,95 (0,78%), 4,14 (3,37%), y 117,82 (95,86%), respectivamente (Tabla 11 y Figura 9).

Tabla 11: Promedio de fragmentos (F) únicos, raros y frecuentes por sitio de muestreo y promedio total de fragmentos analizados.

Fragmentos	Sitios de muestreo				
	2166 A-E	1800 A-F	2000 A-E	QH 1-7	TOTAL
Promedio F únicos	0,6	0,6	1,6	1	0,95
% F únicos	0,53	0,49	1,23	0,79	0,78
Promedio F raros	2,4	3,2	6,6	4,29	4,14
% F raros	2,13	2,63	5,09	3,39	3,37
Promedio F frecuentes	109,8	117,8	121,4	121	117,82
% F frecuentes	97,34	96,88	93,67	95,81	95,86

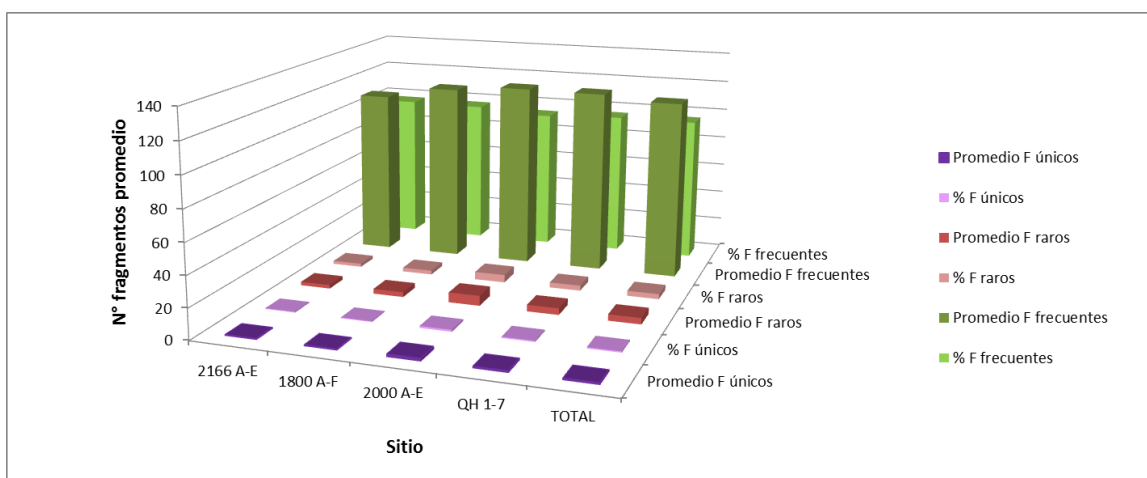


Figura 9: Porcentaje y promedio de fragmentos (F) únicos, raros y frecuentes por sitio de muestreo y media total.

Al comparar los sitios de fácil acceso (1800 A-F; 2000 A-E; 2166 A-E) con el sitio difícil acceso (QH 1-7) se obtuvo como resultado que el número de fragmentos únicos, raros y frecuentes en el primer caso fue de 0,93 (0,75%), 4,07 (3,28%) y 116,33 (95,96%), respectivamente, mientras que para el sitio de difícil acceso fue de 1,00 (0,79%) para fragmentos únicos, 4,29 (3,39%) para fragmentos raros y 121,00 (95,81%) para los frecuentes (Tabla 12 y Figura 10).

Tabla 12: Porcentaje y promedio de fragmentos únicos, raros y frecuentes por sitio de fácil y de difícil acceso.

Fragmentos	Sitio de acceso	
	Fácil	Difícil
Promedio F únicos	0,93	1
% F únicos	0,75	0,79
Promedio F raros	4,07	4,29
% F raros	3,28	3,39
Promedio F frecuentes	116,33	121
% F frecuentes	95,96	95,81

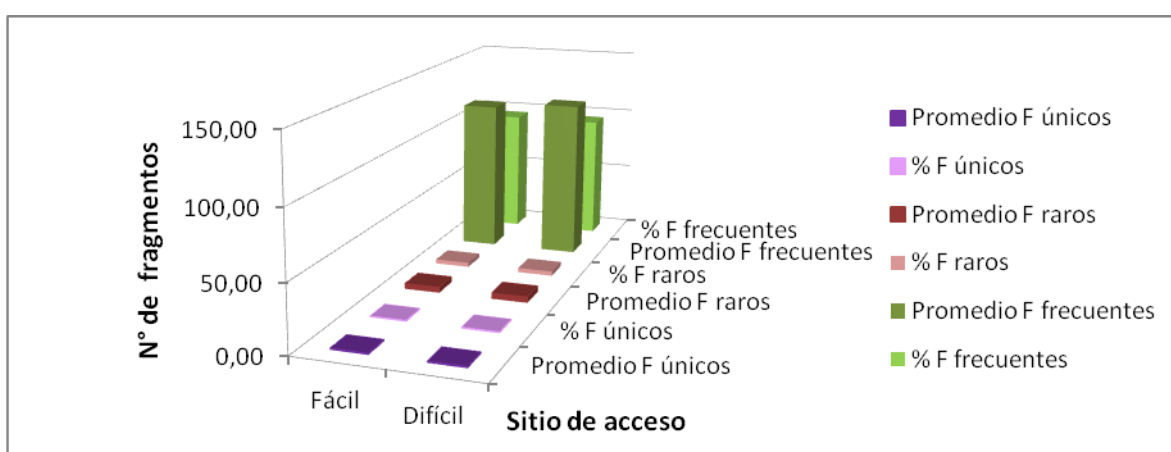


Figura 10: Porcentaje y promedio de fragmentos (F) únicos, raros y frecuentes por sitio de fácil y de difícil acceso.

## 4 DISCUSIÓN

### 4.1. Áreas Naturales Protegidas en Argentina: problemática encontrada e implicancia de los resultados

Argentina cuenta con instituciones dedicadas a la conservación de la diversidad. Estas instituciones se encuentran organizadas en una compleja red de relaciones entre los diferentes grupos que la componen, vinculándose entre ellos a través de la base de datos del SIB (SAyDS Nación).

El SIB permite realizar las búsquedas por AP, por especie y también permite tener acceso a trabajos científicos referentes al área de interés. En la mayoría de los casos permite conocer el autor/institución y nombre de los trabajos de investigación que se realizan en las AP pero sin tener acceso a los mismos. Además suministra información a través del SIFAP donde a partir de una ficha técnica del AP se accede a una descripción de los PN y AP de jurisdicción provincial de Argentina y a las páginas *web* de cada AP.

Las APs relevadas poseen en su mayoría páginas *web* o *blogs* con información de distinto tipo. Describen las características del sitio de modo general como ser, historia, clima, vegetación y fauna, pero no aportan información concreta sobre investigación o conservación de la biodiversidad exceptuando al PN El Leoncito, PN Mburucuyá y la RN Villavicencio, de los cuales sólo el primero tiene a disposición su PM. Además, por ejemplo el PN Predelta posee un programa de educación ambiental y en la RN Nogalar de Los Toldos realizan trabajos con las comunidades aborígenes presentes allí.

Dado que la base de datos del SIB y las páginas *web* o *blogs* de las APs no contienen los PM, sería adecuado que esta información estuviera disponible para los usuarios. Al ser una herramienta de apoyo a la gestión de un AP, los PM brindan una orientación estratégica a largo plazo, ya que establece las políticas, los objetivos, normas y directrices a seguir para la conservación y manejo de sus recursos.

Dado que la realización de un PM es un procedimiento costoso temporal y económicamente, es que la mayoría de las APs no lo poseen o está en proceso su elaboración. Al ser una herramienta de apoyo espacial, temporal y metodológico debe ser visto como un proceso dinámico, y es útil porque facilita a los investigadores: i) la evaluación del manejo realizado dentro del AP en base a los objetivos alcanzados, ii) el desarrollo de la investigación orientada al cumplimiento de los objetivos de creación del AP para el cuidado del patrimonio allí presente, iii) el fortalecimiento de los puntos débiles

vinculados a la conservación de la diversidad dentro del AP y iv) de modo específico, tomando al plan de manejo como línea de base, el desarrollo de proyectos de investigación (Amend et al. 2002; SIB web; SIFAP web). Esta idea se fundamenta además en que los Planes de Gestión Institucional de PN han fijado políticas y lineamientos que se reflejan en los instrumentos de planificación a través de objetivos reales de conservación y metas que se alcanzan a partir de la aplicación de los programas específicos y de POAs que sigan el lineamiento del PM (APN.2006). Los PM de las APs o la literatura científica publican a veces inventarios de las plantas existentes en el área y esta información suele estar disponible para los administradores de las AP. Sería importante obtener esta información para determinar qué PSC se encuentran allí pero, desafortunadamente, los inventarios están incompletos o directamente no están elaborados para la mayoría de las APs (Hunter y Heywood 2011).

Todas las AP en estudio reciben visitantes y aportan información turística específica indicando días y horarios de visitas, los circuitos disponibles y las actividades que se pueden realizar. Algunas APs como PN Iguazú y PN Calilegua son de gran relevancia en materia turística. El hecho que la APN sea orgánicamente dependiente del Ministerio de Turismo desde el año 2000, ha implicado beneficios tangibles económicamente para los PN, pero por otro lado quedó desvinculado de las incumbencias ambientales básicas con que se relacionaban las APs dentro de la SAyDS. No obstante, al poseer una gestión descentralizada algunas de las funciones, atribuciones y competencias como la gestión en las APs han permitido una relativa independencia en cuanto a la gestión, una estabilidad política considerable y una identidad institucional notable (APN 2007; Castaño Uribe 2012; SAyDS Nación).

No obstante, la falta de información precisa y real del manejo efectivo dentro de las APs se manifiesta claramente en la incapacidad de elaborar una respuesta a las encuestas

enviadas a las direcciones de correo electrónico de las páginas oficiales, pese a los objetivos claros presentados por cada organismo o AP. Cabe destacar que los representantes a nivel provincial manifestaron el desconocimiento de lo que efectivamente ocurre en cada AP bajo su tutela y manteniéndose completamente desvinculadas con respecto a lo que ocurre en los PN (Comunicación personal: Técnico Federico Rivas). Esto puede deberse a la inexistencia de la información requerida en el tema o la inadecuada interacción entre las partes que no permite una visión holística. Esta falta de coordinación e interacción entre las agencias provinciales y nacionales fue expresada por dichos representantes en el Taller Regional de Biodiversidad de la Región Centro en el año 1997.

La única reserva que dio respuesta a la encuesta fue RN Villavicencio (Anexo I), la información de la encuesta fue brindada por guardaparques. Por su capacitación ellos están en condiciones de responder el cuestionario por estar en contacto directo con el AP (INRENA 2005).

Es conocido el hecho de que en las APs se realiza investigación, varias organizaciones, Universidades, instituciones públicas, ONGs investigan sobre la diversidad de estos sitios, para lo cual se requiere a los investigadores registrarse y adquirir un permiso. En el caso de PN a través de sus Centros Regionales (SIB web 2013), y en el caso de las reservas provinciales el contacto es directo con el AP, pero no hay un registro operativo de las actividades que se realizan a disposición del público, por lo que en materia de investigación es de difícil acceso conocer los actores reales involucrados. Conocer este tipo de información sería relevante ya que permitiría tener un vínculo directo con especialistas en el tema que se quiera estudiar y facilitar el acceso a información específica.

Los datos que surgen a partir del solapamiento de coordenadas geográficas de las APs con las introducciones del banco de germoplasma del INTA (Tabla 8) necesitan ser confirmados por el relevamiento *in situ* de las especies mencionadas en las APs a las cuales pertenecen. Una visita a los lugares permitiría obtener la información requerida. En este caso, conocer la presencia de PSC es relevante ya que se consideran especies de interés para la conservación.

Eishan en Gomez et al. (2005), manifiesta que la preocupación principal de un programa de conservación debe ser la preservación de la diversidad genética de poblaciones ya que su pérdida puede reducir su viabilidad al disminuir su habilidad para adaptarse a condiciones ambientales cambiantes. Formas apropiadas de conservación de la diversidad genética pueden ir desde programas para la recuperación de poblaciones y hábitats o planes de conservación con diversos niveles de intervención en el manejo, hasta declaraciones de conservación para monitorear el estado de las poblaciones de PSC (Hunter y Heywood 2011).

Cuando se pretende conservar PSC se debe usar algún criterio de selección de las especies (Burkart 2006). No existe una metodología precisa y acordada para seleccionar las especies o poblaciones prioritarias para conservación *in situ*, y mucho dependerá de los requisitos y circunstancias locales (Hunter y Heywood 2011). Hay dos maneras de conservar la diversidad genética en condiciones *in situ* que involucre a APs, creando nuevas APs que contemplen la diversidad genética de determinadas especies o estableciendo una reserva genética dentro de un AP ya creada.

Para implementar programas de conservación *in situ* es necesario establecer reservas genéticas, las cuales se pueden diagramar en base a diferentes criterios. Una priorización simple puede ser basada en el pool de genes de los PSC, también aquellos que estén más amenazados o en peligro, o en la facilidad de utilización que posean. Sin embargo, la

mayor prioridad es probable que sea por su valor como alimento (importante para la nutrición y seguridad alimentaria), por su gran valor económico y por su valor de múltiples usos (Kell et al. 2010; Hunter y Heywood 2011). Pero además, establecer reservas genéticas en zonas o áreas donde se encuentre alta diversidad o el mayor número de especies de interés para ser conservadas. Adoptando este último criterio, y en el caso particular de especies silvestres de papa, se recomendaría las APs PN Los Cardones, MN Laguna de los Pozuelos y RB de Las Yungas ya que en estas áreas es donde a través de este estudio se han detectado el mayor número de especies de la sección *Petota*. Por ejemplo, establecer una reserva genética en el PN los Cardones posibilitaría la conservación y el manejo de las especies *S. acaule*, *S. gourlayi*, *S. megistacrolobum*, *S. spagazzinii* y *S. vernei*. El procedimiento de crear nuevas APs dispersas en diferentes sitios de una región, aunque seleccionadas por su valor de conservación, no asegura a largo plazo la conservación de la biodiversidad (Burkart2006). Además, deben considerarse factores como uso de la tierra, presiones potenciales de desarrollo, nivel y calidad del sitio, estado legal y conflicto potencial con objetivos existentes allí.

Las APs en su mayoría han sido designadas como tales por su belleza en el paisaje, por poseer especies de flora y fauna amenazada de extinción, pero pocas han sido establecidas por contener taxas de prioridad. Por lo general dentro de las actuales APs es posible que exista conservación de PSC pero de modo pasivo. El hecho de establecer una reserva genética permitiría el manejo activo y el planteo como prioridad de la conservación de los PSC. Es posible que al dar prioridad de manejo a estas poblaciones en un AP que fue originalmente designada para conservar otra diversidad de especies puede crear conflictos en la gestión. Sin embargo esta situación se podría evitar estudiando la dinámica biótica y abiótica del sitio para que la gestión sea común entre ambas.

Dado que el objetivo en una reserva genética debe ser conservar y priorizar sitios en los que se presente la máxima diversidad genética dentro y entre poblaciones y/o diversidad taxonómica (Kell et al. 2010), el hecho de seleccionar sitios dentro de APs existentes, posibilita la oportunidad única de trabajar con sectores que poseen biodiversidad protegida, hecho que facilita el seguimiento de las poblaciones en evolución dado que pueden responder a cambios ambientales. Además permitiría la supervisión activa y la realización de estudios detallados de los PSC dentro del sitio (Hunter et al. 2012).

#### **4.2. Caracterización genética de poblaciones en la Reserva Natural Villavicencio**

El uso de marcadores moleculares AFLP ha permitido generar una base de datos de los fragmentos AFLP en poblaciones de *S. kurtzianum* distribuidas en la Reserva Natural Villavicencio que permitirá establecer una línea de base para ser usada en el monitoreo de las poblaciones evaluadas a través del tiempo.

Evaluar cambios en la diversidad genética, a través de marcadores moleculares, puede ser costoso. Sin embargo, en PSC considerados de alta prioridad pueden aportar información muy valiosa para su manejo. La evaluación genética permite seleccionar a las poblaciones más apropiadas y aptas para la conservación *in situ* y permite establecer si hay flujo genético entre poblaciones aisladas. Evaluar la diversidad genética de una población objetivo en cuanto a cantidad total de genotipos o alelos (riqueza) o la frecuencia de diferentes genotipos o alelos (uniformidad) es útil para i) comparar poblaciones y determinar cuál seleccionar para realizar acciones de conservación y ii) para decidir qué poblaciones monitorear para evaluar cambios en la diversidad genética a través del tiempo (Hunter y Heywood 2011).

Aproximadamente el 25% de la superficie terrestre está cubierta de montañas, escenario que ofrece pronunciados gradientes ambientales que han estimulado la investigación



durante siglos (Körner 2007). A medida que ascendemos en una montaña la temperatura, la humedad relativa y la presión de aire disminuyen continuamente, mientras que la radiación solar es más intensa. La RN Villavicencio cumple con las características de las regiones montañosas descritas y es factible que diferencias microambientales a lo largo de un gradiente altitudinal estén ejerciendo una presión de selección sobre los genotipos que allí se distribuyen diferenciando genéticamente las poblaciones.

Del análisis del fenograma, surgió una separación del grupo de muestras recolectadas a altitudes por debajo de 1750 m.s.n.m con respecto a las otras que fueron recolectadas entre los 1800 y 2166 m.s.n.m. Esta separación podría ser explicada por una diferente presión de selección, de acuerdo con las variaciones en las condiciones ambientales microclimáticas entre los sitios. Sin embargo, esta diferenciación de muestras recolectadas por debajo de 1750 m.s.n.m no se corroboró en el Análisis de Coordenadas Principales, lo que restaría apoyo a esta posible asociación entre variabilidad genética y altitud. Cabe destacar que el número de muestras recolectadas a menor altura fue menor que para el resto, por lo que sería necesario ensayar mayor cantidad de muestras para que aporten mayor representatividad al grupo y para corroborar estos resultados. A su vez, para avanzar en la clarificación de este aspecto es necesario caracterizar las variables ambientales a diferentes alturas dentro de la reserva y posteriormente evaluar a través de métodos de análisis espacial si hay ciertos alelos que están bajo selección de las variables ambientales medidas.

Por otro lado, la heterogeneidad (distinguiendo muestras recolectadas en distintos sitios) que se observó entre los grupos que contuvieron las muestras recolectadas a mayor altura estaría determinada por un flujo génico irrestricto entre los diferentes sitios, ya sea por dispersión del polen o de semillas. Estos datos son consistentes con los obtenidos por Marfil y Masuelli (2013), quienes analizando la variabilidad genética con marcadores

AFLP de poblaciones de *S. kurtzianum* distribuidas en Mendoza, incluidas poblaciones de la RN Villavicencio, encontraron que las plantas no se agrupaban de acuerdo a su origen geográfico. Poca asociación entre variabilidad genética y distancia geográfica se ha demostrado para las especies silvestres de papa *Solanum jamesii* y *Solanum fendleri* (del Río et al. 2001), *Solanum sucrense* (del Río y Bamberg 2002), *Solanum acaule* y *Solanum albicans* (McGregor et al. 2002) y *Solanum tuberosum* L. Grupo Phureja (Ghislain et al. 2006). Por lo tanto, el origen geográfico no sería un parámetro útil para estimar la diversidad genética entre poblaciones (del Río y Bamberg 2002). En papa, varios estudios han encontrado una variación significativa entre introducciones de una misma especie, e inclusive entre plantas dentro de introducciones en caracteres de importancia económica, y han demostrado que ni las relaciones taxonómicas ni factores biogeográficos predicen consistentemente la resistencia a plagas y enfermedades (Jansky et al 2006, 2008, Spooner et al 2009). A su vez, resultados obtenidos con marcadores microsatélites mostraron que introducciones de las especies silvestres de papa *S. kurtzianum* y *Solanum spegazzinii* (Bedogni y Camadro 2009) y de *S. kurtzianum* y *Solanum chacoense* (Raimondi 2002) mantenidas por el Banco de Germoplasma de Papa y Forrajeras (INTA Balcarce), no se agruparon en función de su origen geográfico. Un estudio similar realizado con marcadores AFLP en poblaciones naturales de *Solanum gourlayi* y *Solanum spegazzinii* demostró que los mayores porcentajes del total de la variabilidad genética encontrada se distribuyó dentro de las introducciones (Erazzú et al. 2009), en coincidencia con los resultados aportados por Bedogni y Camadro (2009). Para las 22 poblaciones evaluadas en este estudio, la mayor variabilidad fue dentro de poblaciones, consistentemente con los antecedentes presentados.

Los factores que contribuirían a la distribución de la diversidad genética dentro y entre poblaciones naturales resulta de los procesos evolutivos de mutación, migración,

selección y deriva génica. En papa, para explicar la falta de asociación entre la distancia genética y geográfica, varios autores han sugerido que el pequeño tamaño de las poblaciones puede hacer que ciertos acontecimientos estocásticos sean los más importantes en la partición de la diversidad genética (del Río et al. 2001; Ghislain et al. 2006; Spooner et al. 2009). Estos eventos incluyen los cambios ambientales, factores demográficos y la deriva genética. Sin embargo, los factores ecológicos que afectan a la reproducción y la dispersión es probable que sean particularmente importantes en la determinación de la estructura genética (Loveless y Hamrick 1984). La falta de información sobre la biología reproductiva, el papel de los polinizadores y la producción de semillas en poblaciones de especies silvestres de papas es evidente (Andersson & de Vicente 2010; Camadro 2012; Camadro et al. 2012). En los antecedentes mencionados anteriormente para diversas especies de papa, el hecho de que la variabilidad genética se encuentra principalmente entre las plantas dentro de las poblaciones, indicaría que en las poblaciones evaluadas, la reproducción sexual es más relevante que la multiplicación clonal (por tubérculos). Evidencias adicionales obtenidas por Marfil y Masuelli (2013) apoyarían este concepto: evaluando la diversidad genética en poblaciones distribuidas en parches (recolectadas en una superficie de 30x30 cm), detectaron en todos los casos más de un genotipo. A su vez estos autores avanzaron en la caracterización de interacciones ecológicas que participarían en el flujo génico entre poblaciones de *S. kurtzianum* en la RN Villavicencio (Marfil y Masuelli 2013).

En *S. kurtzianum*, el sistema de apareamiento, los dos modos de reproducción y la interacción ecológica podrían tener un papel importante en el establecimiento y mantenimiento de alta diversidad dentro de las poblaciones y la baja diferenciación entre las poblaciones. *Solanum kurtzianum* (como la mayoría de las especies silvestres de papa) es alógama, un sistema de apareamiento que promueve el movimiento del polen

entre los individuos y posibilita que los alelos sean compartidos ampliamente entre poblaciones, reduciendo así la diferenciación entre ellas. Marfil y Masuelli (2013) demostraron que la dispersión de frutos con múltiples semillas a través de canales aluvionales, podría disminuir la estructura genética de las poblaciones, al proporcionar poblaciones fundadoras genéticamente diversas. Además, se caracterizaron insectos polinizadores que mediarían la dispersión de polen a distancias de entre 100 y 1800 metros (Marfil y Masuelli 2013). Por otro lado, se demostró que las poblaciones de *S. kurtzianum* en la RN Villavicencio mantienen un banco de semillas en el suelo, lo que permite el surgimiento de nuevos genotipos a través del tiempo. Estos genotipos, sexualmente establecidos, son mantenidos clonalmente mediante tubérculos, incluso en condiciones muy desfavorables, como las establecidas en estaciones secas o por severas defoliaciones ejercidas por plagas y enfermedades.

Los antecedentes presentados y los obtenidos en este trabajo son relevantes para proponer como viable y recomendable la conservación *in situ* del germoplasma silvestre de papa. del Río et al. (1997a) demostraron que técnicas estándar implementadas en los bancos de germoplasma son suficientemente eficientes para minimizar la pérdida o disminución de la diversidad genética en la conservación *ex situ* del germoplasma de papa. Sin embargo, los bancos de germoplasma no pueden preservar la variabilidad dinámica que se encuentra en las poblaciones naturales. Resultados obtenidos mediante marcadores RAPD (*Random Amplification of Polymorphic DNA*) en las especies silvestres de papa *S. jamesii* y *S. fendleri* mostraron que las poblaciones recolectadas en diferentes años en el mismo lugar y mantenidas en el banco de germoplasma fueron significativamente diferentes para las dos especies (del Río et al. 1997b). Este hallazgo indica que la variabilidad genética conservada en el banco de germoplasma no representa necesariamente a la de las poblaciones naturales actuales. Por lo tanto, la conservación

*in situ* es altamente valiosa para preservar el cambio continuo de la variabilidad genética en las papas silvestres. Teniendo en cuenta que la mayor proporción de la variabilidad genética se encuentra dentro de las poblaciones silvestres de papa (Bedogni y Camadro 2009; Erazzú et al 2009; Marfil y Masuelli 2013), la conservación *in situ* de especies silvestres de papa en un solo sitio sería recomendable ya que se conservaría gran parte de la variabilidad total.

Por otro lado, los resultados obtenidos respecto a la distribución de fragmentos de AFLP totales, frecuentes, raros y únicos en sitios de fácil y difícil acceso son de utilidad para fijar estrategias de recolección de germoplasma para la conservación *ex situ* de los mismos. Una alta proporción de fragmentos (alelos) únicos en determinada población puede utilizarse como criterio de muestreo para conservar estas variantes genéticas únicas o poco frecuentes. Sin embargo, la distribución homogénea de fragmentos únicos entre poblaciones de *S. kurtzianum* dentro de la RN Villavicencio, indica que sería recomendable recolectar germoplasma de un gran número de poblaciones que se distribuyan aledañas a caminos o rutas, a las que se pueda acceder con vehículo, sin dispensar tiempo y esfuerzo en emprender largas travesías pedestres para acceder a poblaciones aisladas.

## BIBLIOGRAFIA

- AMEND, S.; GIRALDO, A.; OLTREMARI, J.; SÁNCHEZ, R.; VALAREZO, V.; YERENA, E. 2002. [En línea]. Planes de Manejo - Conceptos y Propuestas. En: Parques Nacionales y Conservación Ambiental No. 10. Panamá. 110 p. [http://www.conservationdevelopment.net/Proyecto/MPI/Plan\_Manejo.htm], [Consulta: febrero, 2013].
- ANDERSSON M.S., DE VICENTE M.C. 2010. Gene flow between crops and their wild relatives. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, USA.
- APN web. Administración de Parques Nacionales. <http://www.parquesnacionales.gov.ar>
- APN. 2007. Las Áreas Protegidas de la Argentina. Informe nacional preliminar. Herramienta superior para la conservación de nuestro patrimonio natural y cultural. Administración de Parques Nacionales. Buenos Aires. Argentina. 87p.
- APN. 2006. Plan quinquenal de manejo 2007 – 2011. Parque Nacional Rio Pilcomayo. Administración de Parques Nacionales. Argentina. 124p.
- APPLIED BIOSYSTEMS. 2004. GeneMapper® Software Version 3.7
- BEDOJNI MC, CAMADRO EL. 2009. Morphological and molecular evidence of natural interspecific hybridization in the diploid potato *Solanum kurtzianum* from Argentina. Botany 87:78-87. Bio-Rad Laboratories. 2000. Programa Molecular Analyst™/PC versión 1.5. USA.
- BONAVIA, D. 1993. La papa: apuntes sobre sus orígenes y su domesticación. Journal de la Société des Américanistes. 79(1) 173 – 187.
- BURKART, R. 2006. Las áreas protegidas de la Argentina. En Brown, A.; Ortiz U. M.; Acervi M. y Corcuera J. eds. La Situación Ambiental Argentina. Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires. 399-431p.
- BURKART, R.; DEL V. RUIZ, L.; DANIELE, C.; NATENZON, C.; ARDURA, F.; BALABUSIC, A. y CICHERO, P. 1994. El Sistema Nacional de Áreas Naturales Protegidas de la Argentina. Diagnóstico de su Patrimonio Natural y su Desarrollo Institucional. Administración de Parques Nacionales. Buenos Aires, Argentina.
- CAMADRO E.L. 2012. Relevance of the genetic structure of natural populations, and sampling and classification approaches for conservation and use of wild crop relatives: potato as an example. Botany, 90, 1065–1072.
- CAMADRO E.L., Erazzu L.E., Maune J.F., Bedogni M.C. 2012. A genetic approach to the species problem in wild potato. Plant Biology, 14, 543–554.
- CASTAÑO URIBE. 2012. La descentralización de la gestión en áreas protegidas de

América Latina: un reto ineludible con la conservación del patrimonio y la ampliación de las oportunidades. Red Latinoamericana de Cooperación Técnica en Parques Nacionales, otras Áreas Protegidas, Flora y Fauna Silvestres. REDPARQUES. Revista Parques. ISSN 2218-8983.

CBD.1992. Convenio sobre la diversidad biológica. [En línea]. Naciones Unidas. [http://www.cbd.int/convention/text/], [Consulta: septiembre 2011].

CBD web. <http://www.cbd.int/history/>

CIP web. International Potato Center. <http://cipotato.org/genebank/>

CIP.2008. La odisea de la papa. Centro internacional de la papa (CIP). Lima, Perú.24p.

CLAUSEN A.M. y CASTAÑO M.del C.1998.Catálogo del material del Herbario Bal, Solanum sect.Petota. Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, INTA. Centro Regional Buenos Aires Sur. Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP. Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

COFEMA web. Consejo Federal de Medio Ambiente <http://www.cofema.gob.ar/>

CONTRERAS, A. 2008. Historia y origen de la papa cultivada: influencia de la papa americana en el mejoramiento de la especie a nivel mundial. En: XXIII congreso de la ALAP 2008. Mar del Plata, Argentina.

CRISCI, J.V. y LOPEZ ARMENGOL, M.F. 1983 .Introducción a la práctica y taxonomía numérica. Secretaría General de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, D.C.132p.

DALMASSO, A; MARTINEZ CARRETERO E.; VIDELA F.; PUIG S. y CANDIA R.1999. Reserva Natural Villavicencio: Plan de Manejo. Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas. Mendoza, Argentina. En: MULTEQUINA 8: 11-50.

DE HAAN, S.; NUÑEZ, J.; BONIERBALE,M; GHISLAIN,M. 2010. Agrobiodiversity and Conservation of Andean Potatoes in Central Peru. Species, Morphological, Genetic, and Spatial Diversity. CIP- Lima Perú. En: Mountain Research and Development 30: 222–231.

DEL RIO AH, BAMBERG JB, HUAMAN Z, SALAS A, VEGA SE. 2001. Association of ecogeographical variables and RAPD marker variation in wild potato populations of the USA. Crop Science 41:870-878.

DEL RIO, A. H.; BAMBERG, J. B; HUAMAN, Z. 1997.a. Assessing changes in the genetic diversity of potato gene Banks: 1. Effects of seed increase. Theory Apply Genet. 95: 191-198p.

DEL RIO, A. H.; BAMBERG, J. B.; HUAMAN, Z.; SALAS, A. VEGA, S. E.1997.b. Assessing changes in the genetic diversity of potato gene Banks: 2. In situ vs. ex situ. Theory Apply Genet. 95: 199-204p.

- DEL RIO AH, BAMBERG JB. 2002. Lack of association between genetic and geographic origin characteristics for the wild potato *Solanum sucrense* Hawkes. *American Journal of Potato Research* 79:335-338.
- DELLAPORTA SL, WOOD J, HICKS JB. 1983. A plant DNA minipreparation: version II. *Plant. Mol. Biol.* 1:19-21.
- DRNR web: Dirección de Recursos Naturales Renovables- Gobierno de Mendoza:  
<http://www.ambiente.mendoza.gov.ar>
- ENVIRONMENTAL SYSTEMS RESEARCH INSTITUTE, Inc. 1999. Programa Arc View GIS 3.2. USA.
- ERAZZÚ L.E., CAMADRO E.L., CLAUSEN A.M. 2009. Persistence over time, overlapping distribution and molecular indications of interspecific hybridization in wild potato populations of Northwest Argentina. *Euphytica*, 168, 249–262.
- ESCORIHUELA, M; FURLOTI, S.; GONZÁLEZ DEL SOLAR, N. ; LAGO, D. ; MARTÍN, L. ; MOYANO, A.; PINTO, M. ; RUIZ FREITES, S.; TORCHIA, N. 2006. Derecho Ambiental y de los Recursos Naturales. En: *Derecho ambiental e institucional*. Artes Gráficas Unión. (5): 219-253.
- FAO web. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.  
<http://www.fao.org/home/es/>
- FAO. 1996. Plan de Acción Mundial para la Conservación y la Utilización Sostenible de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura y la Declaración de Leipzig. Cuarta Conferencia técnica Internacional sobre Recursos Fitogenéticos. Leipzig, Alemania. 63 p.
- FAO. 2008. Informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación. Mecanismo Nacional de Intercambio de Información sobre la Aplicación del Plan de Acción Mundial para la Conservación y la Utilización Sostenible de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación. Informe sobre el Establecimiento del Mecanismo y el Estado de Aplicación del Plan de Acción Mundial en la Argentina. Argentina. 46p.
- FAO. 2009. Tratado internacional sobre los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- FAO. 2011. Segundo Plan de Acción Mundial para los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura. Comisión de recursos genéticos para la alimentación y la agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma, Italia. <http://www.fao.org/docrep/015/i2624s/i2624s00.pdf>
- FERREIRA, G; GRATTAPAGLIA, D. 1998. Introducción al uso de Marcadores Moleculares en el análisis Genético. Ministerio da Agricultura e do Abastecimento (MA) Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuaria (EMBRAPA). Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnología (CENARGEN). Brasília, DF. 221.p



- GHISLAIN M., ANDRADE D., RODRIGUEZ F., HIJMANS R.J., SPOONER D.M. (2006)  
Genetic analysis of cultivated potato *Solanum tuberosum* L. Phureja Group using  
RAPDs and nuclear SSRs. *Theoretical and Applied Genetics*, 113, 1515–1527.
- GOBIERNO DE MENDOZA. 2006. Curso de educación ambiental: Parques y Reservas.  
Ministerio de Ambiente y Obras Públicas- Subsecretaría de Medio Ambiente.  
Mendoza, Argentina. Fascículo 18: 12p.
- GOMEZ, O.J.; BLAIR, M.W. ; FRANKOW-LINDBERG, B.E. AND GULLBERG ,U.2005.  
Comparative study of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces conserved  
ex situ in gene banks and in situ by farmers. *Genetic Resources and Crop  
Evolution* (2005) 52: 371–380p.
- HAJJAR, R. Y HODGKIN, T.H. 2007. The use of wild relatives in crop improvement: A  
survey of developments over the last 20 years. *Euphytica* 156:1–13.
- HAWKES, J.G. 1990. Hawkes JG. 1990. The potato: Evolution, Biodiversity and Genetic  
Resource. Washington D.C.: Smithsonian Institution Press.
- HAWKES, J.G. and HJERTING, J.P.1969. The potatoes of Argentina, Brazil, Paraguay  
and Uruguay. A biosystematic study. Oxford: Oxford University Press.
- HIJMANS, R.J.; SPOONER, D.M. 2001. Geographic distribution of wild potato species.  
*American journal of Botany* 88(11):2101-2112.
- HUNTER D, HEYWOOD V, editores. 2011. Parientes silvestres de los cultivos: manual  
para la conservación in situ. Bioversity International, Roma, Italia. 1ª. ed.
- HUNTER, D.; MAXTED, N.; HEYWOOD, V.; KELL, S.; BORELLI, T. 2012. Protected  
areas and the challenge of conserving crop wild relatives parks. Vol 18.1. 87-98p.
- IIAP. 2002. Parientes Silvestres de los Cultivos Nativos en el Perú. Memorias del  
seminario. En: Cruz García, G. eds. Proyecto Conservación In Situ de los Cultivos  
Nativos y sus Parientes Silvestres IIAP –PNUD – FMAM. Universidad Nacional  
Agraria La Molina, Lima, Perú. 70 p.
- IICA. 2010. Estrategia en recursos fitogenéticos para el Cono Sur. Instituto  
Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), PROCISUR,  
Montevideo, Uruguay.172p.[En línea] [<http://www.iica.int>], [Consulta: octubre 2012]
- INRENA. 2005. Monitoreo básico de la diversidad biológica en áreas naturales  
protegidas. Serie: Biblioteca del Guardaparque. Ministerio de Agricultura.
- Instituto Nacional de Recursos Naturales 2005, Instituto NacionaldeRecursos Naturales –  
INRENA. Lima. Perú.
- INTA Proyectos - Conservación in situ de recursos genéticos vegetales silvestres de  
importancia para la agricultura y la alimentación en sus ambientes naturales  
<http://inta.gob.ar/proyectos/aerg-231211/>
- INTA Servicios. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

<http://servicios.inta.gov.ar/bancos/>

- IUCN web Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.  
[http://www.iucn.org/es/sobre/union/secretaria/oficinas/sudamerica/sur\\_trabajo/sur\\_aprotegidas/ap\\_introduccion/](http://www.iucn.org/es/sobre/union/secretaria/oficinas/sudamerica/sur_trabajo/sur_aprotegidas/ap_introduccion/)
- IYP.2008 Potato and biodiversity. [En línea]. International Year of the Potato Secretariat Food and Agriculture Organization of the United Nations. [http://www.potato2008.org/es/lapapa/biodiversidad.html. ], [Consulta: marzo 2013].
- JANSKY S.H., SIMON R., SPOONER D.M. 2006. A test of taxonomic predictivity: resistance to white mold in wild relatives of cultivated potato. *Crop Science*, 46, 2561–2570.
- JANSKY S.H., SIMON R., SPOONER D.M. 2008. A test of taxonomic predictivity: resistance to early blight in wild relatives of cultivated potato. *Phytopathology*, 98, 680–687.
- JANSKY, S.H.; DEMPEWOLF, H.; CAMADRO E.L.; SIMON, R.; ZIMNOCH-GUZOWSKA, E.; BISOGNIN, D.A.; BONIERBALE, M. 2012. A Case for Crop Wild Relative Preservation and Utilization in Potato (*Solanum tuberosum* L.). *Crop Science*.
- KELL, N.; MAXTED, N.; FRESE, L.; IRIONDO, J.M. 2010. In situ conservation of crop wild relatives in Europe: a strategic approach . Towards the establishment of genetic reserves for crop wild relatives and landraces in Europe University of Maderia, Funchal, Portugal.
- KÖRNER C. 2007. The use of 'altitude' in ecological research. *Trends Ecol. Evol.* 22, 569-74.
- LEY N° 22.351. Ley de parques nacionales, monumentos naturales y reservas nacionales. Buenos Aires, Argentina, 12 de diciembre de 1980.
- LEY N° 25.675. Ley general del Ambiente. [En línea]. Buenos Aires, Argentina, 6 de noviembre de 2002.  
[http://infoleg.mecon.gov.ar/infolegInternet/anexos/7500079999/79980/norma.htm], [Consulta: diciembre 2011].
- LEY N° 6.045. Régimen de áreas naturales provinciales y ambientes silvestres. Mendoza, Argentina, 26 de agosto de 1993.
- LEY N°24.375. Aprobación del Convenio sobre la Diversidad Biológica. [En línea]. Buenos Aires, Argentina, 7 de septiembre de 1994.  
[http://www.ambiente.gov.ar/?aplicacion=normativa&IdNorma=84&IdSeccion=0], [Consulta: noviembre 2011]
- LOVELESS M.D., HAMRICK J.L. 1984. Ecological determinants of genetic structure of plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 15, 65–95.
- Mc.GREGOR C.E., VAN TREUREN R., HOEKSTRA R., VAN HINTUM T.H.J.L. 2002.

Analysis of the wild potato germplasm of the series Acaulia with AFLPs: implications for ex situ conservation. *Theoretical and Applied Genetics*, 104, 146–156.

MARFIL, C.F. Y MASSUELLI R.W. 2013. Reproductive ecology and genetic variability in natural populations of the wild potato, *Solanum kurtzianum*. *Plant Biology*. German Botanical Society and The Royal Botanical Society of the Netherlands. 13p

MARZIALI, C. (08-06-2012). Análisis del Proyecto de Ley N° 56463. Estructplan on line. Disponible en <https://www.estrucplan.com.ar/articulos/verarticulo.asp?IDArticulo=2954> [12.02.2013]

MASUELLI, R.W.; CAMADRO, E.L.; ERAZZÚ, L.E.; BEDOGNI, M.C; MARFIL, C.F. 2009. Homoploid hybridization in the origin and evolution of wild diploid potato species. *Plant Syst Evol* 277:143-151.

MAXTED, N.; FORD-LLOYD, B.V.; JURY, S.; KELL, S. SCHOLTEN, M. 2006. Towards a definition of a crop wild relative. *Biodiversity and Conservation* 15:2673–2685

MAXTED, N. y KELL, S.P. 2009. Establishment of a Global Network for the In Situ Conservation of Crop Wild Relatives: Status and Needs. *FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture*, Rome, Italy. 266 p.

MILLER, J.K.; HERMANB, E.M.; JAHNC, M.; BRADFORD K.J. 2010. Strategic research, education and policy goals for seed science and crop improvement. *Plant Science* 179: 645–652.

MORALES GARZÓN, F.J. 2007. Sociedades precolombinas asociadas a la domesticación y cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) en Sudamérica. *Revista Latinoamericana de la Papa*. 14(1): 1-9.

MORANTE, M.C. 2008. Conocimiento nativo de las papas silvestres (*Solanum* section *Petota* Solanaceae) en Bolivia. *Ecología en Bolivia*. 43(1):58-64.

NACIONES UNIDAS. 2012. Documento final de la Conferencia de las Naciones Unidas sobre Desarrollo Sostenible Rio+20. Rio de Janeiro, Brasil. 59 p.

OSORIO, C. (17-05-2012). Cambiaran ley de áreas protegidas para poder incluir a Villavicencio. *Diario Uno* [on line]. Disponible en <http://www.diariouno.com.ar/edimpresa/2012/05/17/nota300617.htm> [10.12.2012]

PAB. 2007. Conservación privada: la participación del sector privado en proyectos de conservación. Las áreas protegidas privadas en las provincias de Jujuy y Salta. Informe preliminar. Proyecto Alto Bermejo (PAB). 38 p.

PNUMA web. Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Oficina regional para América Latina y el Caribe <http://www.pnuma.org/recnat/esp/diversidadbiologica.php>

PNUMA. 2003. Estado Actual de las Áreas Naturales Protegidas de América Latina y el

Caribe- Versión Preliminar. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) .Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Quercus Consultoría Ecológica S.C.130p.

- RAIMONDI J.P. 2002. Caracterización de las especies silvestres diploides *Solanum kurtzianum* y *Solanum ruiz-lealii* para su utilización en el mejoramiento genético de la papa. Ph.D. thesis, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.
- ROHLF F.J. 1992. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate system. Exeter Software. Setauket, New York, USA.
- SALA, O.E.; CHAPIN, F.S.; ARMESTO, J. J.; BERLOE, E.; BLOOMPELD, J.; DIRZO, R. ; HUBER-SANWALD, E.; HUENNEKE, L. F. ; JACKSON, R.B.; KINZIG, A. ; LEEMANS, R. ; LODGE, D. M.; MOONEY, H.A.; OESTERHELD, M.; LEROY POFF, N.; SYKES, M.T.; WALKER, B. H.; WALL D. H. 2000. Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. *Science* 287:1770-1774.
- SANTOS, T. Y TELLERÍA, J.L. 2006. Pérdida y fragmentación del hábitat: efecto sobre la conservación de las especies. [en línea]. Asociación Española de Ecología Terrestre (AEET). *Ecosistemas* 15 (2):3-12. [<http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=423>]
- SAyDS Mendoza: Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Gobierno de Mendoza: <http://www.ambiente.mendoza.gov.ar/index.php/areas-protegidas>
- SAyDS Nación. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Gobierno de la Nación Argentina <http://www.ambiente.gov.ar/>
- SCBD. 2009. Informe sobre la Conservación de las Especies Vegetales: Una revisión de los progresos realizados en la aplicación de la Estrategia Mundial para la Conservación de Plantas (GSPC). Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica (SCBD). 48 p.
- SIB web. Sistema de información de Biodiversidad <http://www.sib.gov.ar/>
- SIFAP web. Sistema Federal de Áreas Naturales Protegidas <http://www2.medioambiente.gov.ar/sifap/default.asp>
- SIN AUTOR. 1997. Taller Regional de Biodiversidad de la Región Centro. Documento de estrategiaregional y plan de actividades. 5p.
- SPOONER D.M., JANSKY S.H., SIMON R. (2009) Tests of taxonomic and biogeographic predictivity: resistance to disease and insect pests in wild relatives of cultivated potato. *Crop Science*, 49, 1367–1376.
- VOS, P., R. HOGERS, M. BLEEKER, ET AL. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23:4407–4414.

## ANEXO I

Guía y cuestionario enviado a las Reservas Naturales (en azul se encuentran las respuestas brindadas en la RN Villavicencio).

### **GUÍA PARA COMPLETAR EL CUESTIONARIO**

El cuestionario consta de 8 partes, 63 preguntas en total, e incluye un ítem que requiere información adicional precisa.

#### **Datos de/los encuestados - Preguntas N° 1-5 ABC**

Los datos serán empleados para validar la encuesta y conocer quiénes son los que tienen conocimiento acabado del manejo real que se desarrolla dentro del Área Natural Protegida (AP) Preguntas N° 1 a 5: Se deben Consignar los datos de la /las personas que respondan el Cuestionario.

#### **Datos del Área Protegida (AP) - Preguntas N° 6-24**

El objeto es verificar la información obtenida a través de datos publicados y relevar la existencia de modificaciones en los mismos, que se hayan realizado recientemente.

Preguntas N° 6 a 22: las mismas han sido completadas, para facilitar su labor, en base a la ficha extendida presentada por el Sistema de Información de Biodiversidad (SIB) de Administración de Parques Nacionales en su página web <http://www.sib.gov.ar/>. Se requiere que éstos datos sean revisados y corregidos y las modificaciones correspondientes deberán ser colocadas entre paréntesis, sin modificar lo que allí figura.

Preguntas N°9, 10, 21 y 22: Los datos deberán ser completados debido a que dicha información no se encuentra disponible en algunos casos para el AP.

Pregunta N°23: En el cuadro indicado como **Objetivos de creación (otros)**, está consignado en algunos casos, los objetivos generales y específicos para el AP. Verifique que sean correctos y en caso de no serlo, colocar los objetivos que correspondan entre paréntesis. Si los objetivos generales y específicos no figuran, indicarlos allí.

Las restantes preguntas presentes en el cuestionario deben ser respondidas siguiendo la siguiente modalidad:

- marcar con una cruz (x) en el casillero correspondiente, respondiendo **Sí** o **No** a la pregunta realizada. En los casos donde el casillero que contiene la pregunta indica *Aclarar/indicar tipo*: deberá completar allí mismo la respuesta y luego optar por **Sí** o **No**.

- en aquellos casos donde la pregunta permita el desarrollo de la respuesta, se debe escribir la misma en los cuadros adjuntos indicados para tal fin.

#### **Investigación, Evaluación, Programas de manejo y Uso de Recursos Naturales presentes en el AP - Preguntas N° 25 a 47**

La finalidad es relevar la existencia de modo general, de antecedentes de investigación realizados en el AP, incluyendo planes de manejos y/o temáticas estudiadas: De modo específico, pretendemos relevar las evaluaciones y uso de recursos vegetales, como así también la presencia de algunas especies particulares dentro del AP.

Cada cuadro corresponde a una pregunta: deberá responder **Sí** o **No** a las opciones planteadas. En caso de que éstas no coincidan, deberá redactar la respuesta en el cuadro adjunto.

#### **Problemática y amenazas a la que se enfrenta el Área Protegida - Pregunta N°48**

El objeto es relevar cuales son los problemas y las amenazas en particular que considera tiene que enfrentar ésta AP, ya sea que en la actualidad los mismos se estén resolviendo o que sigan afectando el área a futuro.

En caso de que alguna de estas problemáticas se haya resuelto efectivamente, indicar cuál es en el cuadro adjunto, haciendo la aclaración pertinente. En caso de no coincidir las problemáticas, indicar en dicho cuadro la respuesta afirmativa.

#### **Población que habita o está presente en el AP - Preguntas N° 49- 54**

Las preguntas están dirigidas a relevar de modo general, la presencia o no de pobladores en el AP y la relación que tienes las comunidades presentes y aledañas, con el AP.

#### **Educación, difusión y divulgación del conocimiento - Pregunta N° 55**

La pregunta está dirigida fundamentalmente a relevar las actividades que se llevan a cabo para participar y/o fortalecer el

aspecto referido a Educación Ambiental.

### **Protección y control del AP: Recursos humanos - Preguntas N° 56-63**

Preguntas N° 56 a 58: El objeto es relevar la existencia de personal idóneo destinado a la protección del AP y la presencia de instrumentos básicos para su cuidado.

Preguntas N° 59 a 63: Consiste en una serie de preguntas cuyas respuestas tienen valor subjetivo, para relevar la percepción que posee sobre el AP y los impactos positivos que su existencia genera, y los impactos negativos que considera relevantes ante la presencia de turistas, más allá de las condiciones legales bajo las cuales se rige.

### **Información adicional requerida**

Punto N° 64: Se requiere un esquema general y simplificado de la organización a nivel institucional (Nacional/Provincial/Municipal) dentro de la cual el AP está comprendida, que vincule las preguntas N° 13, 14, 15 y 18 correspondientes a: jurisdicción, tipo de administración, administrador y dominio de la tierra respectivamente, para obtener una visualización global de las entidades vinculadas jerárquicamente.

## **CUESTIONARIO**

### **OBJETIVOS GENERALES**

1. Relevar la existencia de programas de conservación y manejo de flora en las Áreas Naturales Protegidas de nuestro País.
2. Identificar las especies vegetales estudiadas como recursos biológicos en las Áreas Naturales Protegidas.
3. Relevar el grado de aplicación de programas de Investigación y de Conservación de recursos genéticos vegetales o fitogenéticos, en dichas Áreas.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Relevar si en el Área Protegida (AP) crecen especies silvestres de papa (género *Solanum*, sección *Petota*)
2. Relevar la existencia de antecedentes de investigación y recolección de material correspondiente a especies silvestres de papa por parte de investigadores.

### **Datos de/los encuestados**

A1. Nombre y Apellido	Roberto Pascual Tobares
A2. Nacionalidad	Argentina
A3. Estudios cursados/Título obtenido	Terciarios Técnico Superior en Conservación de la Naturaleza y áreas naturales protegidas.
A4. Función que desempeña en el AP/ Vinculación con el AP	Guardaparque, relación dependencia con Aguas Danone de Argentina Reserva Natural de Villavicencio
A5. Antigüedad en la función	10 años y medio

B1. Nombre y Apellido	Correa Emilio
B2. Nacionalidad	Argentina
B3. Estudios cursados/Título obtenido	Terciarios Técnico Superior en Conservación de la Naturaleza y áreas naturales protegidas.
B4. Función que desempeña en el AP/ Vinculación con el AP	Guardaparque, relación dependencia con Aguas Danone de Argentina Reserva Natural de Villavicencio
B5. Antigüedad en la función	2 años y medio

C1. Nombre y Apellido	
C2. Nacionalidad	
C3. Estudios cursados/Título obtenido	
C4. Función que desempeña en el AP/ Vinculación con el AP	
C5. Antigüedad en la función	

### **Datos del Área Protegida ( AP)**

6.Nombre del AP		Reserva Natural Privada Villavicencio					
7.Superficie total protegida		72.000 has					
8.Coordenadas geográficas y límites Emplazada en la Precordillera del macizo andino, (Gauss Kruger: x: 6.379.000 a 6.413.500; y: 2.485.000 a 2.518.000) y a una altura que va entre los 700 y los 3000 m.s.n.m. (Puig et al. 2008).							
Latitud sur		32° 25' y 32° 35'			Longitud oeste		entre los 68° 50' y los 69° 10'
9.Ampliación		Sí		No		x	
10.Superficie ampliada (ha)		72000 ha					
11.Provincia		Mendoza			12.Localidad		Las Heras
13.Jurisdicción		Dirección Recursos Naturales Renovables Provincia de Mendoza					
14.Tipo de Administración		Privada					
15.Administrado por		Aguas Danone de Argentina.					
16.Grado de control							
17.Instrumento legal de creación		Resolución 1065/2000 Dirección de Recursos Naturales Renovables					
18.Dominio de la tierra		Privado					
19.Categoría/s de conservación				20.Ecoregion/es a la que pertenece			
Reserva Natural Privada Voluntaria y de Uso múltiple (Ley 6.045 Mendoza)				Provincia Fitogeográfica del Monte			
21. ¿Acepta visitantes?						Sí	x No
22. ¿Este AP tiene reconocimiento Internacional?							
Patrimonio de la Humanidad		Sí		No	x	Superficie que abarca (ha)	
Reserva de Biósfera		Sí		No	x	Superficie que abarca (ha)	
Sitio RAMSAR		Sí		No	x	Superficie que abarca (ha)	
23. ¿Cuáles son los objetivos por los que se creó el AP? Indicar con una X en el casillero correspondiente.							
<b>Objetivos de creación</b>						<b>Sí</b>	<b>No</b>
a. Por la excepcionalidad de sus ecosistemas						x	
b. Por excepcionalidad de comunidades naturales							x
c. Por poseer especies de flora y fauna de valor excepcional						x	
d. Por la importancia de los recursos genéticos que alberga						x	
e. Por belleza escénica, paisajística y de valor recreativo						x	
f. Por ser un sitio natural único o poseer el paisaje natural						x	
g. Por poseer cuencas de captación o reservorios hídricos						x	
h. Por poseer formaciones geológicas, yacimientos arqueológicos o paleontológicos						x	
i. Para mantener la existencia o mejorar las condición de las especies o variedades silvestres individuales						x	
j. Para proteger áreas de desove, lugar de nidificación, asentamiento estacional de las especies.						x	
k. Por ser un sitio poco estudiado que pretende conservar sin darle utilización inmediata							x
l. Por ser reservorio cultural, histórico						x	
m. Por poseer comunidades aborígenes: para preservar sus pautas culturales, las tierras y los recursos vivos que poseen							x
n. Por poseer cierto grado de transformación de su condición natural y convivencia armónica entre las actividades naturales y los recursos silvestres (sitios donde hay producción ganadera extensiva y/o forestal)							x
o. Otros (aclarar en cuadro adjunto)							
o. <b>Objetivos de creación</b> proteger ecosistemas presentes en la región que aun no se encontraban protegidos dentro de la Ley de Espacios naturales de la provincia, como son el cardonal y la Puna							

--

24. ¿Qué tipo de evaluación se realiza sobre el AP que permita determinar si la aplicación de las políticas logra los objetivos planteados?

Tipos de evaluación	Sí	No
a. Sistema de seguimiento, monitoreo y evaluación de ecosistemas	x	
b. Verificación periódica del estado del AP por parte de técnicos de la autoridad de aplicación	x	
c. Elaboración de informes por parte del propietario ( en caso de ser privada)	x	
d. Realización de una evaluación anual o el mantenimiento de un libro de novedades del AP	x	
e. Implementación de programas anuales y posterior evaluación	x	
f. Otros( aclarar en cuadro adjunto)		

f. Tipos de evaluación (Otros)

#### Investigación, Evaluación, Programas de manejo y uso de Recursos Naturales presentes en el AP

25. Los investigadores que han realizado trabajos dentro del AP: ¿con que institución/es se encuentran vinculados?

Instituciones que investigan	Sí	No	Nombre del investigador y/o Nombre de la Institución
a. Instituciones del Estado	x		INTA,
b. Instituciones académicas del País	x		UBA, UNC Cuyo, UN San Juan
c. Instituciones académicas dentro de la Provincia	x		CCT ( IANIGLIA IADIZA), Facultad de Filosofía y Letras UNCuyo
d. Instituciones académicas extranjeras	x		Universidad Católica de Chile
e. Municipio	x		Municipio de Las Heras
f. Privados			
g. ONG Nacionales y/o Internacionales	x		Banco de Bosques, Fundación Vida Silvestre
h. Centros científicos-Tecnológicos	x		CCT Mendoza
i. Particulares en convenio con ONG		x	
j. Particulares en convenio con el órgano Provincial		x	
k. Otros (aclarar)			

26. ¿Cuáles son las principales especies protegidas de flora, fauna y otros organismos que poseen un valor especial dentro del AP? Mencione las más relevantes.

Especies animales	Especies vegetales	Otros organismos
GUANACO	CARDÓN SP	COLIAS MENDOCINA
CONDOR	DIPYTENA GLABERRIMA	LAGARTO COLA ESPINUDA
AGUILA CORONAADA	AJENJO	SUIR CORDILLERANO
SIETE CUCHILLOS	JARILLAS SP	CHINCHILLÓN
INANBU SILVÓN	ALGARROBO	TUNDUQUE

27. Dentro de la Investigación que se desarrolla en el AP: ¿cuáles son las principales líneas de investigación que se abordan sobre las especies que posee?

Líneas de investigación	Sí	No
a. Destinadas a establecer Líneas de Base de Biodiversidad y modos de Monitoreo	x	
b. Destinadas a conocer la Diversidad florística, estructura y dinámica poblacional de especies determinadas.	x	
c. Destinadas a conocer la Diversidad faunística, estructura y dinámica poblacional de especies determinadas.	x	
d. Ecología poblacional (vegetal, animal u otro tipo de organismos)	x	
Indicar tipo:		
e. Rehabilitación ecológica	x	
f. Referidas al uso de Recursos biológicos		x
g. Referidas a Especies de interés agrícola	x	



h. Basadas en profundizar conocimiento sobre restos fósiles y arqueológicos	X	
i. Otros (aclarar en cuadro adjunto)		

<b>i. Líneas de investigación (Otros)</b>

28. ¿Qué Metodología de evaluación se utilizada para determinar el grado de conservación de especies vegetales dentro del AP?		
<b>Metodología de evaluación</b>	<b>Sí</b>	<b>No</b>
a. Evaluación de cambios a través del tiempo del área de ocupación de especies vegetales	X	
b. Diagnóstico de causas y efectos que afectan a las poblaciones de flora	X	
c. Uso de Indicadores (biológicos, sociales, económicos, ambientales, de sustentabilidad, etc). <i>Indicar tipo:</i>		X
d. Seguimiento del estado y la evolución demográfica de poblaciones	X	
e. otros (indicar en cuadro adjunto)		

<b>e. Metodología de evaluación (Otros)</b>

29. ¿Se han construido series históricas que permitan establecer líneas de base para la evaluación del desempeño, impacto y eficiencia de las acciones impulsadas dentro del AP?
SI INFORME ANUAL

30. ¿Esta AP presenta Plan de manejo?				
Sí	X	No		En proceso de elaboración

31. ¿Se elabora algún tipo de Plan anual o Programa operativo anual de Manejo?	Sí	X	No	
--	----	---	----	--

32. ¿Qué tipos de programas posee el AP?		
<b>Programa</b>	<b>Sí</b>	<b>No</b>
a. Programa de investigación	X	
b. Programa de conservación y manejo	X	
c. Programa de educación ambiental	X	
d. Programa de uso público	X	
e. Programa de control de incendios forestales	X	
f. Programas de aprovechamiento de recursos (flora y fauna)		X
g. otros (indicar en cuadro adjunto)		

<b>g. Programa (Otros)</b>

33. ¿Cuáles de dichos programas se implementan actualmente?
Todos excepto programas de aprovechamiento de recursos ( flora y fauna)

34. ¿Puede identificar si alguno de estos temas es abordado dentro de las actividades de manejo que se realizan en el AP y/o forma parte de algún programa específico dentro de los programas antes mencionados?				
Temas	Actividades		Programas específicos	
	Sí	No	Sí	No
a. Monitoreo y control de invasiones biológicas	X		X	
b. Restauración de ecosistema	X		X	
c. Recuperación de especies de fauna amenazadas o en peligro de extinción	X		X	
d. Investigación y monitoreo de especies vegetales	X		X	
e. Desarrollo sustentable que incluyan a los pobladores		X		X
f. Manejo de cuencas hídricas	X			
g. Manejo y conservación de flora y fauna silvestre	X		X	
h. Protección, restauración y recuperación de especies.	X		X	

i. Monitoreo y evaluación con indicadores sobre el estado de conservación del AP	<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	
j. Ortos (indicar en cuadro adjunto)				

<b>e. Actividades y/o Planes específicos (Otros)</b>

35. ¿Realizan evaluación y monitoreo de algún programa? Indique cuál es y qué metodología de evaluación emplean.

36. ¿Conoce si existen programas vinculados a la conservación y/o a la investigación de recursos biológicos de origen vegetal en el AP?				
Sí	<input checked="" type="checkbox"/>	No		¿Cuál? <u>solanaceas</u>

Entiéndase por recurso biológico a los organismos o partes de ellos, las poblaciones o cualquier otro tipo del componente biótico de los ecosistemas de valor real o potencial para el hombre. Implica considerarlos como recursos genéticos (fitogenéticos), bioquímicos y orgánicos.

37. ¿Conoce si existen programas vinculados a la conservación y/o a la investigación de especies silvestres emparentadas con plantas cultivadas, que implique la conservación de su germoplasma como recurso fitogenéticos en ésta AP?				
Sí		No	<input checked="" type="checkbox"/>	¿Cuál?

38. ¿Poseen un registro de información sobre los estudios científicos llevados a cabo en el AP por distintas Instituciones y/o científicos?	Sí	<input checked="" type="checkbox"/>	No	
---	----	-------------------------------------	----	--

39. Más específicamente en relación al punto anterior: ¿poseen registro de información sobre estudios científicos realizados en el AP que se hayan basado en recursos fitogenéticos?	Sí		No	<input checked="" type="checkbox"/>
--	----	--	----	-------------------------------------

40. Dentro de los temas que se han estudiado sobre flora en el AP: ¿a qué temas se han referido las investigaciones?		
<b>Temas de investigación</b>	<b>Sí</b>	<b>No</b>
a. Estudio de especies de interés agrícola		<input checked="" type="checkbox"/>
b. Estudios específicos que implique uso de Indicadores. <i>Aclarar tipo de indicador empleado:</i>		
c. Estudio de la biología de especies vegetales		
d. Estudio sobre presión de uso de recursos vegetales	<input checked="" type="checkbox"/>	
e. Estudios ecológicos	<input checked="" type="checkbox"/>	
f. Estudios genéticos		
g. Estudios de dinámica de comunidades vegetales	<input checked="" type="checkbox"/>	
h. Estudio del Manejo de especies vegetales de interés medicinal y aromáticas	<input checked="" type="checkbox"/>	
i. Estudio del estado actual de los recursos y su tendencia a lo largo del tiempo		<input checked="" type="checkbox"/>
j. Otros (indicar en cuadro adjunto)		

<b>j. Temas de investigación (Otros)</b>

41. ¿El AP presenta un listado o inventario de la flora que posee?	Sí	<input checked="" type="checkbox"/>	No	
--	----	-------------------------------------	----	--

42. ¿Se encuentran relevadas las especies, subespecies y variedades de flora en el sitio?	Sí	<input checked="" type="checkbox"/>	No	
---	----	-------------------------------------	----	--

43. Dentro del inventario: ¿hay alguna especie de flora que haya sido estudiada por su relevancia como recurso fitogenético? ¿Cuál/les son?	
<u>Estudio Chilca Malí</u>	

44. Piensan que dentro del AP puede haber más diversidad de recursos fitogenéticos?				
Sí	<input checked="" type="checkbox"/>	No		¿Por qué? <u>Faltan relevamientos</u>

45. Un tipo de recurso fitogenético lo constituyen las especies silvestres. Qué tipo de uso se realiza de dicho recurso en esta AP?
---

Uso indirecto: especies silvestres relacionadas con la especie cultivada y que puede ser utilizada como fuente de genes de interés agrícola.	Sí		No	x
Uso directo: especies que el hombre explota directamente de los ecosistemas naturales sin introducirlas en los cultivos como son por ejemplo forrajeras, aromáticas, medicinales, forestales.	Sí		No	x
Uso potencial: especies que no se explotan actualmente pero que pueden ser de utilidad futura por alguna cualidad como farmacológica o industrial.	Sí	x	No	

46. ¿Podría definir, de acuerdo a cada uso, las especies que se utilizan generalmente para tal fin? Indicar las más relevantes. Chilca mali, ajenojo, matico, poleo

Usos	Especies
Uso indirecto	
Uso directo	
Uso potencial	Chilca, malí

47. ¿Conoce si alguna de las siguientes especies silvestres de papa (género *Solanum*) mencionadas para Argentina, se encuentran relevadas o han sido estudiadas dentro de éste AP? Indicar con una X

Especies	Relevadas		Estudiadas	
	Sí	No	Sí	No
a. <i>Solanum. commesonii</i>				
b. <i>S. tarijense</i>				
c. <i>S. chacoense</i>				
d. <i>S. megistacrolobum</i>				
e. <i>S. santae-rosae</i>				
f. <i>S. toralapanum</i>				
g. <i>S. infundibuliforme</i>				
h. <i>S. maglia</i>				
i. <i>S. gourlayi</i>				
j. <i>S. incamayoense</i>				
k. <i>S. kurtzianum</i>	x			
l. <i>S. microdontum</i>				
m. <i>S. neorossii</i>				
n. <i>S. okadae</i>				
o. <i>S. oplocense</i>				
p. <i>S. spegazzini</i>				
q. <i>S. venturii</i>				
r. <i>S. Tuberosum</i>				
s. <i>S. vernei</i>				
t. <i>S. acaule</i>				
u. Otros ( indicar en cuadro adjunto)				

u. <b><i>Solanum</i> (Otros)</b>

Entiéndase por relevado, si se ha verificada y/o citada la presencia de estas especies en el AP.

Entiéndase por estudio, si se han desarrollado investigaciones específicas en cuanto a su distribución, biología reproductiva, caracterización genética, etc.

#### **Problemática y amenazas a la que se enfrenta el AP.**

48. A continuación se mencionan algunos problemas que se citan como frecuentes en un AP. Señale con una X según corresponda.

Problemática	Sí	No
a. Deforestación del monte natural	x	
b. Avance de frontera agrícola	x	
c. Sobrepastoreo	x	
d. Falta de recursos humanos y económicos		x
e. Contaminación el agua por desechos municipales y agroquímicos		x
f. Contaminación del suelo por residuos	x	
g. Incendios forestales (intencionales, naturales). <i>Aclarar tipo:</i>	ambos	
h. Sequías		

i. Desorden en la planeación turística (turismo sin planificación)		
j. Litigios con la actividad minera, petrolera u otro tipo. <i>Aclarar tipo de actividad:</i>	<u>x</u>	
k. Caza furtiva	<u>x</u>	
l. Extracción de las especies vegetales maderables, de plantas aromáticas, medicinales y comestibles o extracción de recursos naturales de valor comercial y/o cultural. <i>Aclarar tipo:</i>	<u>x</u>	
m. Conversión y fragmentación del hábitat natural aledaño al AP	<u>x</u>	
n. Uso no planificado y excesivo de recursos		<u>x</u>
o. Invasiones biológicas	<u>x</u>	
p. Otros (indicar en cuadro adjunto)		

<b>p. Problemática (Otros)</b>
Manejo de residuos antrópicos

**Población que habita o está presente en el AP.**

49. ¿Hay comunidades indígenas viviendo en el AP?	Sí		No	<u>x</u>
50. ¿Hay pobladores aledaños al AP que utilicen sus recursos?	Sí	<u>x</u>	No	
51. ¿Cómo es la relación con las comunidades que habitan y/o pertenecen a zonas aledañas al AP?				
<b>Relación</b>	<b>Habitan en el AP</b>			<b>Habitan en zonas aledañas</b>
a) Conflicto	Sí	<u>x</u>	No	Sí <u>x</u> No
b) Armonía	Sí	<u>x</u>	No	Sí <u>x</u> No

52. ¿Se realizan consultas informadas, apropiadas y públicas a las comunidades sobre procesos ambientales?	Sí		No	<u>x</u>
50. ¿Hay participación social de los pueblos indígenas o de las comunidades que habitan el AP con respecto a la protección de usos ancestrales de los recursos?	Sí		No	<u>x</u>

53. ¿Se incentiva la revaloración y protección de conocimientos ancestrales y sus usos aplicados?
Sí      No <u>x</u> ¿De qué modo?

54. Respeto a los usos tradicionales sustentables de recursos naturales				
a) ¿Tienen prioridad las comunidades en el uso de recursos?	Sí	<u>x</u>	No	
b) ¿Hay participación comunitaria en la vigilancia ambiental?	Sí	<u>x</u>	No	
c) ¿Qué actividades están permitidas dentro del AP? (Ej.: extracción de leña, plantas medicinales, etc.)				
ninguna				

**Educación, difusión y divulgación del conocimiento**

55. ¿En el aspecto de educación ambiental, en el AP que tipo de actividades se realizan?		
<b>Actividades</b>	<b>Sí</b>	<b>No</b>
a. Visitas guiadas en el AP	<u>x</u>	
b. Ecoturismo	<u>x</u>	
c. Venta de souvenirs y artesanías de los habitantes en Ferias comunitarias y/o regionales		<u>x</u>
d. Conferencias-seminarios-pláticas	<u>x</u>	
e. Realización de publicaciones con trabajos científicos (boletines institucionales; folletos y ediciones diversas) sobre temas específicos. <i>Aclarar tipo:</i>	<u>x</u>	
f. Otros (indicar en cuadro adjunto)		

<b>f. Actividades (Otros)</b>

**Protección y control del AP: Recursos humanos**

56. ¿Esta AP posee guardaparques?				
<b>Sí</b>	<b>x</b>	<b>No</b>	<b>Número de guardaparques</b>	<b>10</b>

57. ¿Poseen el equipamiento necesario de operación a campo? Marcar con una X.

<b>Equipamiento</b>	<b>Sí</b>	<b>No</b>
a. Vehículos	x	
b. Equipo de campo (indumentaria )	x	
c. Equipo contra incendio	x	
d. Equipo de comunicación	x	
e. Otros (detallar en cuadro adjunto)		

**e. Equipamiento (Otros)**

caballos, mule, biblioteca, oficina en planta apoyo logístico

58. ¿Qué tipo de Infraestructura y servicios turísticos posee el AP *in situ*? Marcar con una X.

<b>Infraestructura</b>	<b>Sí</b>	<b>No</b>
a. Casetas (sitio de vigilancia)		x
b. Senderos interpretativos y centros de interpretación	x	
c. Torres de control de incendios		x
d. Sitio destinado a campamentos		x
e. Albergues (cabañas de alojamiento)		x
f. Estación meteorológica. Indicar instrumentos de medición y variables meteorológicas que se pueden monitorear:	x	
g. Otros ( indicar en cuadro adjunto)		

**f. Infraestructura (Otros) sanitarios, folletería, restaurante, comunicaciones ( antena)**

59. ¿De acuerdo a la siguiente escala: qué valor le asignaría a la infraestructura del AP?

- 5 = Existe toda la infraestructura física necesaria para el manejo básico de las AP  
 4 = Existe la mayor parte de infraestructura necesaria para el manejo básico de las AP  
 3 = Existen alguna infraestructura para el manejo básico pero hay brechas considerables  
 2 = Existe poca infraestructura para el manejo básico de las AP  
 1 = No existe infraestructura para el manejo de las AP

<b>Valor</b>	<b>4</b>	<b>¿Por qué?</b>	Para el manejo básico hay infraestructura adecuada
--------------	----------	------------------	--

60. Según una escala del 1-5: ¿Cuál es la percepción sobre la importancia que este AP tiene en la Administración pública Nacional/Provincial/ Municipal (según corresponda)?  
 1-mala 2-regular 3-Bueno 4- Muy Bueno 5-Excelente

<b>Valor</b>	<b>4</b>	<b>¿Por qué?</b>	Por el valor que tiene históricamente el lugar
--------------	----------	------------------	--

61. ¿Cuáles son los Impactos positivos que se genera al existir esta AP?

<b>Impactos Positivos</b>	<b>Sí</b>	<b>No</b>
a. Generación de empleos (guardaparques, guías turísticos, etc)	x	
b. Concientización ambiental	x	
c. Cambio de actitud de la población hacia la naturaleza	x	
d. Incorporación de comunidades locales a la conservación del sitio	x	
e. Mayor reconocimiento a la importancia de la conservación de especies	x	
f. Generación de recursos financieros para Áreas Protegidas	x	
g. Brinda nuevas opciones de desarrollo y creación de negocios comunitarios para los pobladores	x	
h. Generación de conocimiento científico	x	
i. Otros	x	

**i. (Otros) Relaciones organismos de fiscalizaciones y control**

--

62. En esta AP ¿se realiza turismo?	Sí	<input checked="" type="checkbox"/>	No
-------------------------------------	----	-------------------------------------	----

63. ¿Cuáles son los impactos negativos que considera genera el turismo sobre el AP?		
<b>Impactos negativos</b>	<b>Sí</b>	<b>No</b>
a. Generación de basura	<input checked="" type="checkbox"/>	
b. Falta de control sobre senderos	<input checked="" type="checkbox"/>	
c. Afectación a la fauna y la flora	<input checked="" type="checkbox"/>	
d. Mayor presión sobre el ecosistema natural	<input checked="" type="checkbox"/>	
e. Vandalismo	<input checked="" type="checkbox"/>	
f. Erosión	<input checked="" type="checkbox"/>	
g. Falta de control en construcción de infraestructura (camino que cruza)	<input checked="" type="checkbox"/>	
h. Sobrecarga en cuanto a capacidad de visitantes por falta de control y planeación	<input checked="" type="checkbox"/>	
i. Otros		

i. (Otros)

**Información adicional requerida**

64. Organigrama de las instituciones vinculadas al AP.



## ANEXO II

Parámetros empleados en el programa Gene Mapper® (ABI)

<b>Analysis Method-AFLP</b>
Size standar description: G5500(-250) Size standar dye: Red Size in base pairs: 50, 75, 100, 139, 150, 160, 200, 300, 340, 350, 400, 450, 490, 500.
<b>Allele</b>
Analysis AFLP Dyes: Blue- Red Panel: Generate panel using samples. Bin (with pb):1.0. Use oll samples. Analysis range (pbs): Start: 100.0 End:500.0 Normalization scope: Proyect Normalization Method: Sun of signal. Allele calling-Name alleles using labels: 30=0; 50=check; >50=1
<b>Peack Detection</b>
Peack detection Algorithm: Advanced Ranges: Analysis- Full Gange; Sizing- All sizes. Smoothing and Base lining: Smoothing-None; bae line wingows=51 pts. Size Calling Method: local Southem Method. Peack detection: Peack altitud Tresholds B:50; R:50; G:50; O:50; Y:50. Min Peack half width:2 pts. Polynomial degree: 3 pts. Peack window size: 15 pts. Slope Threshold: Peack start:0.0; Peack end:0.0
<b>Peack Quality</b>
Peack Morphology: max peack width 1.5 (bases pair) Pull up Peack: Pull-up ratio 0.1. Pull- up scan 1
<b>Quality Flags</b>
Quality weight are between 0 and 1. Quality Flag Settings:Spectral pull- up:0.5; Broad peack:0.5; Off- scale:0.5 PQV Thresholds                      Pass Range                      Low Quality Range -Sizing Quality                      from 0.75 to 1.0                      from 0.0 to 0.25 -Genotype quality                      from 0.75 to 1.0                      from 0.0 to 0.25

### ANEXO III

Fragmentos únicos, raros y frecuentes presentes en cada población.

Población	Fragmentos Únicos		Fragmentos Raros	
	ACG/CAA (*)	ACA/CAA (**)	ACG/CAA (*)	ACA/CAA (**)
2166 A	A83	No	A30/A63	B34
2166 B	A79	No	A75/A76	B111
2166 C	No	B91	A75/A76	B111
2166 D	No	No	No	B41/B83
2166 E	No	No	No	B61
1800 A	No	B33	A28/A87	B34
1800 B	A49/ A50	No	A11/A28/A33/A59/A71	B44
1800 C	No	No	A28	B44
1800 D	No	No	No	No
1800 F	No	No	A66/A76/A87/A88	B75
2000 A	No	No	A26/A46/A63/A88	B83
2000 B	A4/ A16/A36/A42	No	A2/A8/A11/A18/A26/A29/A30/A46/A59/A63/A71	No
2000 C	A13/A34	B57/B101	A2/A8/A18/A26/A29/A30/A35/A46/A63	B68
2000 D	No	No	A35/A65	B68/B89
2000 E	No	No	A65	B61/B68
1667 QH1	A44	B123	A41/A65	B34/B40/B44/B84/B89
1713 QH2	A7/A38	No	A25/A33/A46/A65/A66/A75/A76	B40/B41/B44/B84/B75/B89
1910 QH3	A23/A45	No	A25/A33	B24/B34
1910 QH4	No	No	No	B13
1910 QH5	No	No	A41	B40
2000 QH6	No	No	A11	No
2000 QH7	No	B71	No	B13/B24
(*) Corresponde a la denominación A dentro de la tabla.				
(**) Corresponde a la denominación B dentro de la tabla.				



Población	Fragmentos Frecuentes
	ACG/CAA (*)
2166 A	A1/A3/A5/A6/A9/A10/A12/A15/A19/A20/A21/A24/A29/A31/A32/A37/A43/A47/A48/A51/A55/A56/A57/A61/A64/A68/A70/A72/A73/A74/A78/A80/A85
2166 B	A3/A5/A6/A9/A10/A12/A15/A19/A20/A21/A24/A27/A29/A32/A37/A47/A51/A55/A56/A58/A60/A61/A62/A64/A72/A73/A74/A82/A85
2166 C	A3/A5/A6/A9/A10/A12/A15/A19/A20/A21/A24/A27/A29/A32/A37/A47/A51/A55/A56/A58/A60/A61/A62/A64/A72/A73/A74/A82/A85
2166 D	A3/A5/A6/A9/A10/A12/A19/A20/A21/A24/A27/A29/A31/A32/A37/A43/A47/A55/A58/A60/A64/A67/A72/A78/A80/A82/A85
2166 E	A3/A5/A6/A9/A10/A12/A15/A17/A19/A20/A21/A24/A29/A31/A32/A37/A40/A43/A47/A48/A55/A56/A57/A58/A64/A70/A72/A73/A77/A78/A80/A81/A82/A85/A86
1800 A	A3/A5/A6/A9/A10/A15/A19/A20/A21/A27/A29/A31/A32/A37/A40/A47/A48/A55/A56/A57/A58/A64/A72/A73/A74/A77/A78/A80/A81/A82/A85
1800 B	A3/A5/A6/A9/A10/A12/A17/A19/A20/A21/A24/A27/A31/A37/A40/A47/A52/A53/A55/A56/A57/A64/A67/A70/A78/A80/A85
1800 C	A3/A5/A6/A9/A10/A12/A17/A19/A20/A21/A24/A27/A29/A31/A37/A40/A47/A52/A55/A56/A57/A64/A70/A78/A80/A85
1800 D	A3/A5/A6/A9/A10/A15/A19/A20/A21/A27/A29/A31/A37/A43/A47/A52/A55/A56/A57/A64/A67/A78/A80/A82/A84
1800 F	A1/A3/A5/A6/A9/A10/A15/A17/A19/A20/A21/A22/A24/A27/A29/A31/A32/A37/A40/A47/A53/A55/A57/A58/A64/A67/A70/A72/A77/A78/A80/A81/A82/A85
2000 A	A3/A5/A6/A9/A12/A17/A19/A21/A24/A27/A29/A37/A39/A40/A47/A51/A54/A55/A58/A62/A64/A72/A73/A74/A78/A85/A86
2000 B	A3/A5/A6/A9/A10/A12/A17/A19/A20/A21/A27/A29/A31/A37/A39/A40/A43/A47/A54/A55/A58/A60/A64/A72/A73/A78/A80/A84/A85/A86
2000 C	A1/A3/A5/A6/A9/A10/A15/A19/A21/A22/A24/A27/A29/A31/A32/A37/A39/A40/A43/A47/A48/A53/A54/A55/A56/A58/A61/A64/A68/A69/A72/A77/A78/A81/A82/A85
2000 D	A1/A3/A5/A6/A9/A10/A12/A15/A17/A19/A20/A21/A24/A27/A29/A31/A32/A37/A39/A40/A43/A47/A48/A51/A53/A55/A57/A58/A61/A62/A64/A67/A68/A69/A70/A72/A73/A74/A78/A80/A81/A82/A84/A85
2000 E	A1/A3/A5/A6/A9/A10/A12/A15/A17/A19/A20/A21/A24/A27/A29/A31/A32/A37/A40/A43/A47/A48/A51/A53/A55/A57/A58/A61/A62/A64/A67/A68/A70/A72/A73/A74/A78/A80/A81/A82/A84/A85/A86
1667 QH1	A3/A5/A6/A9/A10/A14/A15/A19/A20/A21/A22/A27/A29/A31/A32/A37/A43/A47/A53/A55/A56/A58/A64/A67/A68/A69/A72/A73/A78/A80/A85
1713 QH2	A1/A3/A5/A6/A9/A10/A14/A15/A19/A20/A21/A22/A27/A29/A31/A32/A37/A39/A40/A43/A47/A48/A51/A53/A55/A56/A58/A61/A62/A64/A67/A68/A69/A72/A73/A74/A78/A80/A85
1910 QH3	A1/A3/A5/A6/A9/A10/A14/A15/A19/A20/A21/A22/A24/A27/A29/A31/A32/A37/A43/A47/A48/A51/A53/A54/A55/A57/A58/A60/A62/A64/A68/A70/A72/A73/A78/A80/A82/A84/A85
1910 QH4	A3/A5/A6/A9/A10/A17/A19/A20/A21/A24/A27/A29/A31/A32/A37/A40/A43/A47/A48/A52/A54/A55/A57/A58/A61/A64/A68/A69/A70/A72/A73/A77/A78/A81/A82/A84/A85
1910 QH5	A1/A3/A5/A6/A9/A10/A12/A14/A15/A17/A19/A20/A21/A24/A27/A29/A31/A32/A37/A43/A47/A48/A55/A57/A58/A60/A64/A67/A70/A72/A77/A78/A80/A81/A82/A84/A85
2000 QH6	A1/A3/A5/A6/A9/A10/A12/A14/A15/A17/A19/A20/A21/A22/A24/A27/A29/A31/A32/A37/A43/A47/A48/A51/A53/A54/A55/A57/A58/A62/A64/A67/A70/A72/A73/A78/A80/A81/A82/A84/A85/A86
2000 QH7	A3/A5/A6/A9/A10/A14/A15/A17/A19/A20/A21/A22/A27/A29/A31/A32/A37/A40/A43/A47/A52/A55/A64/A67/A70/A72/A74/A78/A84/A85

(\*) Corresponde a la denominación A dentro de la tabla.

	Fragmentos Frecuentes
Población	ACA/CAA (**)
2166 A	B1/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B15/B16/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B33/B37/B38/B39/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B59/B60
2166 B	B1/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B15/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B37/B38/B39/B43/B45/B46/B47/B50/B51/B52/B54/B55/B56/B58/B59/B60
2166 C	B1/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B15/B17/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B37/B38/B39/B43/B45/B46/B47/B50/B51/B52/B54/B55/B56/B58/B59/B60
2166 D	B1/B3/B5/B6/B7/B9/B10/B11/B12/B16/B17/B18/B19/B21/B22/B23/B25/B27/B29/B30/B31/B32/B35/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B59/B60
2166 E	B1/B3/B4/B5/B6/B7/B9/B10/B11/B12/B15/B18/B20/B21/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B31/B32/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B51/B52/B54/B55/B58/B59/B60
1800 A	B1/B2/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B15/B16/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B35/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B59/B60
1800 B	B1/B2/B3/B4/B5/B6/B7/B9/B10/B11/B12/B15/B16/B18/B19/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B35/B36/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B60
1800 C	B1/B2/B3/B4/B5/B6/B7/B9/B10/B11/B12/B15/B16/B18/B19/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B35/B36/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B60
1800 D	B1/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B16/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B35/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B60
1800 F	B1/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B15/B16/B18/B20/B21/B22/B23/B25/B26/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B35/B37/B38/B39/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B60
2000 A	B1/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B16/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B47/B48/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B59/B60
2000 B	B1/B2/B3/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B16/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B26/B27/B28/B29/B31/B32/B36/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B58/B59/B60
2000 C	B1/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B16/B17/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B36/B37/B38/B39/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B50/B51/B52/B54/B55/B58/B59/B60
2000 D	B1/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B16/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B26/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B35/B36/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B48/B49/B50/B51/B52/B54/B55/B56/B58/B59/B60
2000 E	B1/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B15/B16/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B26/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B36/B37/B38/B39/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B59/B60
1667 QH1	B1/B2/B3/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B15/B17/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B26/B27/B28/B29/B30/B32/B36/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B58/B60
1713 QH2	B1/B2/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B15/B16/B17/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B26/B27/B28/B29/B30/B32/B36/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B47/B48/B49/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B60
1910 QH3	B1/B2/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B15/B16/B17/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B26/B27/B29/B31/B32/B35/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B47/B48/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B59/B60
1910 QH4	B1/B2/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B16/B17/B18/B19/B21/B22/B23/B25/B26/B27/B28/B29/B32/B36/B37/B38/B39/B42/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B59/B60/B58/B60
1910 QH5	B1/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B15/B16/B17/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B26/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B37/B38/B39/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B50/B51/B52/B53/B54/B55/B56/B58/B59/B60
2000 QH6	B1/B2/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B14/B15/B16/B18/B19/B20/B21/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B37/B38/B39/B43/B45/B46/B47/B48/B49/B51/B52/B54/B55/B56/B58/B60
2000 QH7	B1/B2/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B15/B16/B17/B18/B20/B22/B23/B25/B27/B28/B29/B30/B31/B32/B35/B37/B38/B39/B43/B45/B46/B47/B49/B51/B52/B54/B55/B56/B58/B60

(\*\*) Corresponde a la denominación B dentro de la tabla.

	Fragmentos Frecuentes
Población	ACA/CAA (**)
2166 A	B63/B64/B65/B66/B69/B72/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B82/B85/B86/B87/B90/B92/B93/B94/B95/B96/B97/A98/B99/B100/B102/B103/B104/B105/B106/B109/B110/B112/B115/B116/B118/B119/B121/B122/B124/B125/B126
2166 B	B63/B64/B66/B70/B72/B74/B76/B77/B78/B79/B85/B86/B87/B92/B93/B94/B95/B96/B97/B98/B99/B100/B103/B104/B106/B110/B112/B115/B116/B118/B124/B125/B126
2166 C	B63/B64/B66/B70/B72/B74/B76/B77/B78/B79/B85/B86/B87/B92/B93/B94/B95/B96/B97/B98/B100/B102/B103/B104/B106/B110/B112/B115/B116/B118/B124/B125/B126
2166 D	B63/B64/B66/B67/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B82/B85/B86/B87/B92/B93/B94/B95/B97/B98/B100/B102/B103/B104/B105/B106/B109/B110/B112/B114/B115/B116/B117/B118/B124/B125/B126
2166 E	B63/B65/B67/B72/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B85/B86/B87/B92/B93/B94/B96/B97/B98/B100/B102/B103/B104/B105/B109/B110/B112/B115/B116/B117/B118/B124/B125/B126
1800 A	B63/B64/B65/B66/B67/B70/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B82/B85/B86/B87/B88/B90/B92/B93/B94/B95/B96/B97/B98/B100/B102/B103/B104/B105/B106/B107/B109/B110/B112/B113/B114/B115/B116/B117/B118/B119/B124/B125/B126
1800 B	B63/B64/B66/B67/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B82/B85/B86/B87/B88/B92/B93/B94/B95/B96/B97/B98/B100/B102/B104/B106/B107/B108/B110/B112/B113/B115/B117/B118/B120/B121/B124/B125/B126
1800 C	B63/B64/B66/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B82/B85/B86/B87/B88/B92/B93/B94/B95/B96/B97/B98/B100/B102/B104/B106/B107/B108/B110/B112/B113/B115/B117/B118/B120/B121/B124/B125/B126
1800 D	B63/B64/B65/B66/B69/B72/B74/B76/B77/B78/B79/B81/B85/B86/B87/B90/B92/B93/B94/B95/B96/B97/B98/B100/B102/B103/B104/B105/B106/B107/B110/B112/B115/B116/B118/B124/B125/B126
1800 F	B63/B64/B65/B66/B67/B69/B70/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B82/B85/B86/B87/B92/B93/B94/B95/B96/B97/B98/B100/B102/B103/B104/B105/B106/B110/B112/B114/B115/B116/B117/B118/B120/B121/B124/B125/B126
2000 A	B63/B64/B66/B67/B69/B70/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B82/B85/B86/B87/B90/B92/B93/B94/B95/B96/B97/B98/B100/B102/B104/B105/B110/B112/B114/B115/B116/B118/B119/B124/B125/B126
2000 B	B63/B64/B66/B67/B69/B70/B72/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B82/B85/B86/B87/B88/B90/B92/B93/B94/B95/B96/B97/B98/B100/B102/B104/B105/B106/B110/B112/B114/B115/B116/B118/B119/B124/B125/B126
2000 C	B63/B64/B65/B66/B67/B70/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B81/B85/B86/B87/B92/B93/B94/B96/B97/B98/B100/B102/B103/B104/B105/B106/B110/B112/B113/B115/B116/B118/B124/B125/B126
2000 D	B63/B64/B65/B66/B67/B69/B70/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B85/B86/B87/B92/B93/B94/B95/B97/B98/B100/B102/B104/B105/B106/B110/B112/B113/B115/B116/B118/B124/B125/B126
2000 E	/B115/B116/B117/B118B63/B64/B65/B66/B67/B69/B70/B72/B74/B76/B77/B78/B79/B81/B85/B86/B87/B92/B93/B94/B97/B98/B100/B102/B103/B104/B105/B106/B107/B110/B112/B113/B115/B116/B117/B118/B120/B124/B125/B126
1667 QH1	B63/B64/B65/B66/B72/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B81/B85/B86/B87/B88/B90/B92/B93/B94/B95/B96/B97/B98/B100/B102/B104/B106/B107/B110/B112/B113/B115/B116/B117/B118/B119/B120/B124/B125/B126
1713 QH2	B63/B64/B65/B66/B67/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B81/B82/B85/B86/B87/B88/B92/B93/B94/B96/B97/B98/B100/B102/B103/B104/B105/B106/B110/B112/B113/B115/B116/B118/B120/B124/B125/B126
1910 QH3	B63/B64/B66/B67/B69/B70/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B85/B86/B87/B88/B90/B92/B93/B94/B96/B97/B98/B100/B102/B104/B105/B108/B109/B110/B112/B113/B115/B116/B118/B124/B125/B126
1910 QH4	B63/B64/B66/B69/B70/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B81/B85/B86/B87/B92/B93/B94/B97/B98/B102/B104/B105/B110/B112/B115/B116/B118/B124/B125/B126
1910 QH5	B63/B64/B66/B67/B69/B70/B72/B73/B74/B76/B77/B78/B79/B80/B85/B86/B87/B92/B93/B94/B95/B96/B97/B98/B100/B102/B104/B105/B106/B109/B110/B112/B115/B118/B124/B125/B126
2000 QH6	B63/B64/B65/B66/B67/B69/B72/B73/B74/B76/B78/B79/B80/B85/B86/B87/B88/B92/B93/B94/B96/B97/B98/B100/B102/B104/B105/B106/B110/B112/B115/B116/B118/B121/B124/B125/B126
2000 QH7	B63/B64/B65/B66/B69/B72/B73/B74/B76/B78/B79/B80/B85/B86/B87/B88/B92/B93/B94/B96/B97/B98/B100/B102/B104/B105/B106/B108/B110/B112/B115/B116/B117/B118/B124/B125/B126
(**) Corresponde a la denominación B dentro de la tabla.	

Detalle de rango en pares de base, dispersion y tipo de fragmento obtenido.

Combinación 1										
Fragmentos	Rango (pb)		Dispersión	Tipo		Fragmentos	Rango (pb)		Dispersión	Tipo
ACG/CAA 1	101,41	101,70	0,29	F		ACG/CAA 45	186,05	186,38	0,33	U
ACG/CAA 2	103,32	103,50	0,18	R		ACG/CAA 46	193,35	193,74	0,39	R
ACG/CAA 3	104,08	104,74	0,66	F		ACG/CAA 47	194,45	194,91	0,46	F
ACG/CAA 4	105,53	105,64	0,11	U		ACG/CAA 48	195,61	196,09	0,48	F
ACG/CAA 5	106,11	106,84	0,73	F		ACG/CAA 49	198,10	198,45	0,35	U
ACG/CAA 6	107,75	108,37	0,62	F		ACG/CAA 50	201,49	201,65	0,16	U
ACG/CAA 7	109,07	109,14	0,07	U		ACG/CAA 51	206,04	206,50	0,46	F
ACG/CAA 8	110,35	110,60	0,25	R		ACG/CAA 52	206,72	207,23	0,51	F
ACG/CAA 9	111,19	111,76	0,57	F		ACG/CAA 53	208,19	208,76	0,57	F
ACG/CAA 10	115,12	115,75	0,63	F		ACG/CAA 54	208,84	209,39	0,55	F
ACG/CAA 11	116,18		varias	R		ACG/CAA 55	209,91	210,43	0,52	F
ACG/CAA 12	116,84	117,31	0,47	F		ACG/CAA 56	215,63	216,04	0,41	F
ACG/CAA 13	117,93	118,17	0,24	U		ACG/CAA 57	217,65	218,52	0,87	F
ACG/CAA 14	119,02	119,35	0,33	F		ACG/CAA 58	221,87	222,46	0,59	F
ACG/CAA 15	121,11	121,69	0,58	F		ACG/CAA 59	222,92	223,42	0,50	R
ACG/CAA 16	122,96		perdido	U		ACG/CAA 60	223,98	224,39	0,41	F
ACG/CAA 17	123,65	124,04	0,39	F		ACG/CAA 61	228,74	229,21	0,47	F
ACG/CAA 18	125,85	126,01	0,16	R		ACG/CAA 62	230,61	231,07	0,46	F
ACG/CAA 19	126,65	127,17	0,52	F		ACG/CAA 63	252,31	252,48	0,17	R
ACG/CAA 20	127,98	128,58	0,60	F		ACG/CAA 64	252,96	253,80	0,84	F
ACG/CAA 21	129,10	129,78	0,68	F		ACG/CAA 65	254,24	254,53	0,29	R
ACG/CAA 22	130,43	130,85	0,42	F		ACG/CAA 66	271,64	271,90	0,26	R
ACG/CAA 23	131,57	131,75	0,18	U		ACG/CAA 67	272,50	273,30	0,80	F
ACG/CAA 24	133,57	134,14	0,57	F		ACG/CAA 68	273,37	273,97	0,60	F
ACG/CAA 25	139,49	139,74	0,25	R		ACG/CAA 69	274,26	274,89	0,63	F
ACG/CAA 26	143,19	143,77	0,58	R		ACG/CAA 70	278,70	279,67	0,97	F
ACG/CAA 27	144,34	145,07	0,73	F		ACG/CAA 71	280,54	280,74	0,20	R
ACG/CAA 28	147,95	148,28	0,33	R		ACG/CAA 72	281,27	282,13	0,86	F
ACG/CAA 29	150,70	151,22	0,52	F		ACG/CAA 73	285,33	286,11	0,78	F
ACG/CAA 30	155,12	155,39	0,27	R		ACG/CAA 74	293,19	293,84	0,65	F
ACG/CAA 31	155,86	156,64	0,78	F		ACG/CAA 75	294,88	295,22	0,34	R
ACG/CAA 32	157,16	157,89	0,73	F		ACG/CAA 76	296,00	296,35	0,35	R
ACG/CAA 33	158,61	159,13	0,52	R		ACG/CAA 77	304,54	305,44	0,90	F
ACG/CAA 34	163,29	163,46	0,17	U		ACG/CAA 78	323,75	324,91	1,16	F
ACG/CAA 35	164,29	164,52	0,23	R		ACG/CAA 79	338,29		perdido	U
ACG/CAA 36	166,32		perdido	F		ACG/CAA 80	342,25	343,04	0,79	F
ACG/CAA 37	167,07	167,76	0,69	F		ACG/CAA 81	343,01	343,57	0,56	F
ACG/CAA 38	168,54	168,80	0,26	U		ACG/CAA 82	368,17	369,03	0,86	F
ACG/CAA 39	169,66	170,11	0,45	F		ACG/CAA 83	369,28		perdido	U
ACG/CAA 40	170,48	170,93	0,45	F		ACG/CAA 84	372,98	373,57	0,59	F
ACG/CAA 41	172,40	172,59	0,19	R		ACG/CAA 85	373,78	374,53	0,75	F
ACG/CAA 42	175,23	175,40	0,17	U		ACG/CAA 86	398,07	398,24	0,17	F
ACG/CAA 43	176,09	176,67	0,58	F		ACG/CAA 87	417,60	417,78	0,18	R
ACG/CAA 44	177,55	177,77	0,22	U		ACG/CAA 88	447,36	447,56	0,20	R

Combinación 3									
Fragmentos	Rango (pb)		Dispersión	Tipo	Fragmentos	Rango (pb)		Dispersión	Tipo
ACA/CAA 1	100,10	100,93	0,83	F	ACA/CAA 64	220,42	220,92	0,50	F
ACA/CAA 2	101,15	101,66	0,51	F	ACA/CAA 65	223,11	223,64	0,53	F
ACA/CAA 3	103,51	104,15	0,64	F	ACA/CAA 66	225,24	225,74	0,50	F
ACA/CAA 4	104,37	104,91	0,54	F	ACA/CAA 67	226,27	226,80	0,53	F
ACA/CAA 5	105,96	106,59	0,63	F	ACA/CAA 68	227,48	227,59	0,11	R
ACA/CAA 6	107,52	108,18	0,66	F	ACA/CAA 69	229,26	229,87	0,61	F
ACA/CAA 7	108,51	109,27	0,76	F	ACA/CAA 70	231,28	231,79	0,51	F
ACA/CAA 8	109,63	110,15	0,52	F	ACA/CAA 71	232,78	232,85	0,07	U
ACA/CAA 9	111,06	111,65	0,59	F	ACA/CAA 72	233,36	234,00	0,64	F
ACA/CAA 10	112,41	113,04	0,63	F	ACA/CAA 73	234,63	235,26	0,63	F
ACA/CAA 11	115,71	116,43	0,72	F	ACA/CAA 74	241,91	242,48	0,57	F
ACA/CAA 12	118,10	118,66	0,56	F	ACA/CAA 75	245,78	246,03	0,25	R
ACA/CAA 13	119,14	119,34	0,20	R	ACA/CAA 76	246,51	247,08	0,57	F
ACA/CAA 14	122,30	122,92	0,62	F	ACA/CAA 77	249,48	250,17	0,69	F
ACA/CAA 15	125,81	126,44	0,63	F	ACA/CAA 78	250,55	251,23	0,68	F
ACA/CAA 16	129,10	129,68	0,58	F	ACA/CAA 79	253,60	254,44	0,84	F
ACA/CAA 17	130,55	130,70	0,15	F	ACA/CAA 80	254,99	255,90	0,91	F
ACA/CAA 18	131,10	131,67	0,57	F	ACA/CAA 81	255,96	256,69	0,73	F
ACA/CAA 19	132,30	132,81	0,51	F	ACA/CAA 82	256,61	256,97	0,36	F
ACA/CAA 20	133,40	133,98	0,58	F	ACA/CAA 83	259,26	259,49	0,23	R
ACA/CAA 21	134,87	135,41	0,54	F	ACA/CAA 84	260,11	260,61	0,50	R
ACA/CAA 22	136,31	136,86	0,55	F	ACA/CAA 85	263,41	263,49	0,08	F
ACA/CAA 23	137,48	138,14	0,66	F	ACA/CAA 86	264,00	264,75	0,75	F
ACA/CAA 24	139,23	139,45	0,22	R	ACA/CAA 87	265,35	266,04	0,69	F
ACA/CAA 25	139,57	140,69	1,12	F	ACA/CAA 88	268,39	268,80	0,41	F
ACA/CAA 26	142,73	143,28	0,55	F	ACA/CAA 89	269,57	270,18	0,61	R
ACA/CAA 27	144,21	144,89	0,68	F	ACA/CAA 90	270,98	271,96	0,98	F
ACA/CAA 28	145,13	145,77	0,64	F	ACA/CAA 91	274,21	274,62	0,41	U
ACA/CAA 29	152,73	153,40	0,67	F	ACA/CAA 92	278,89	279,66	0,77	F
ACA/CAA 30	153,98	154,80	0,82	F	ACA/CAA 93	282,03	282,64	0,61	F
ACA/CAA 31	156,80	157,85	1,05	F	ACA/CAA 94	285,08	285,87	0,79	F
ACA/CAA 32	162,98	163,61	0,63	F	ACA/CAA 95	286,16	286,99	0,83	F
ACA/CAA 33	164,18	164,42	0,24	U	ACA/CAA 96	287,89	288,40	0,51	F
ACA/CAA 34	165,79	166,20	0,41	R	ACA/CAA 97	290,47	291,07	0,60	F
ACA/CAA 35	167,10	167,52	0,42	F	ACA/CAA 98	294,62	294,98	0,36	F
ACA/CAA 36	168,35	168,81	0,46	F	ACA/CAA 99	295,57	296,19	0,62	F
ACA/CAA 37	169,29	169,87	0,58	F	ACA/CAA 100	295,75	296,58	0,83	F
ACA/CAA 38	172,66	173,45	0,79	F	ACA/CAA 101	296,88		perdido	U
ACA/CAA 39	173,93	174,43	0,50	F	ACA/CAA 102	297,02	297,79	0,77	F
ACA/CAA 40	175,73	175,80	0,07	R	ACA/CAA 103	309,17	309,97	0,80	F
ACA/CAA 41	184,63	185,25	0,62	R	ACA/CAA 104	310,86	311,53	0,67	F
ACA/CAA 42	185,70	186,14	0,44	F	ACA/CAA 105	319,13	319,83	0,70	F
ACA/CAA 43	186,39	186,91	0,52	F	ACA/CAA 106	322,81	323,39	0,58	F
ACA/CAA 44	187,32	187,65	0,33	R	ACA/CAA 107	337,79	338,38	0,59	F

ACA/CAA 45	188,97	189,10	0,13	F		ACA/CAA 108	342,80	343,11	0,31	F
ACA/CAA 46	189,95	190,70	0,75	F		ACA/CAA 109	345,86	346,06	0,20	F
ACA/CAA 47	191,18	191,87	0,69	F		ACA/CAA 110	350,34	350,91	0,57	F
ACA/CAA 48	192,27	192,79	0,52	F		ACA/CAA 111	364,68	364,85	0,17	R
ACA/CAA 49	193,59	194,15	0,56	F		ACA/CAA 112	365,59	365,85	0,26	F
ACA/CAA 50	194,96	195,03	0,07	F		ACA/CAA 113	373,45	373,83	0,38	F
ACA/CAA 51	195,65	196,06	0,41	F		ACA/CAA 114	379,40	379,82	0,42	F
ACA/CAA 52	197,70	198,25	0,55	F		ACA/CAA 115	385,44	386,26	0,82	F
ACA/CAA 53	199,26	199,70	0,44	F		ACA/CAA 116	389,99	390,55	0,56	F
ACA/CAA 54	199,91	200,60	0,69	F		ACA/CAA 117	396,19	396,50	0,31	F
ACA/CAA 55	102,32	102,93	0,61	F		ACA/CAA 118	417,40	417,89	0,49	F
ACA/CAA 56	103,58	104,18	0,60	F		ACA/CAA 119	445,73	446,20	0,47	F
ACA/CAA 57	204,38	205,45	1,07	U		ACA/CAA 120	459,43	459,93	0,50	F
ACA/CAA 58	206,96	207,49	0,53	F		ACA/CAA 121	460,14	460,43	0,29	F
ACA/CAA 59	210,43	210,83	0,40	F		ACA/CAA 122	469,34	469,78	0,44	F
ACA/CAA 60	211,86	212,34	0,48	F		ACA/CAA 123	484,14		perdido	U
ACA/CAA 61	212,99	213,45	0,46	R		ACA/CAA 124	489,00	489,50	0,50	F
ACA/CAA 62	215,11	215,53	0,42	F		ACA/CAA 125	490,24	490,99	0,75	F
ACA/CAA 63	217,60	218,13	0,53	F		ACA/CAA 126	492,12	492,83	0,71	F